

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2019.

Adrijana Radić
1078/PI

**SENZORSKE I KROMATSKE
KARAKTERISTIKE CRNOG VINA
CABERNET SAUVIGNON
TRETIRANOG NETOPLINSKIM
TEHNIKAMA I
ANTIOKSIDANSIMA**

Ovo istraživanje provedeno je u sklopu projekta „Novi enološki postupci kao alternativa sumporovom dioksidu u proizvodnji visokokvalitetnih vina“ (IP-09-2014-3796) financiranom od strane Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ).

Rad je izrađen u Laboratoriju za tehnologiju i analitiku vina na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Karin Kovačević Ganić te uz pomoć Katarine Lukić, mag. inž.

ZAHVALA

Veliko hvala mentorici prof. dr. sc. Karin Kovačević Ganić i Katarini Lukić mag. inž., koje iznimno cijenim. Hvala Vam što ste našli vremena i imali strpljenja na sva moja pitanja i na sugestije tijekom pisanja diplomskog rada.

Veliku zahvalu iskazujem svim kolegicama i kolegama na suradnji tijekom studiranja.

I na koncu veliku zahvalu potpisujem svojim roditeljima koji su uvijek bili uz mene bez obzira da li se radilo o teškim ili sretnim trenucima.

Veliko HVALA svima!

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju i analitiku vina

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

SENZORSKE I KROMATSKE KARAKTERISTIKE CRNOG VINA CABERNET SAUVIGNON TRETIRANOG NETOPLINSKIM TEHNIKAMA I ANTIOKSIDANSIMA

Adrijana Radić, 1078/PI

Sažetak: U ovom radu ispitivan je utjecaj netoplnskih tehnika (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga, hladna plazma) i dodatak antioksidansa (sumporov dioksid i glutation) na senzorske i kromatske karakteristike crnog vina Cabernet sauvignon nakon 12 mjeseci starenja u bocama. Senzorsko ocjenjivanje provedeno je koristeći hedonističku skalu od 9 odgovora, dok su kromatske karakteristike vina određene spektrofotometrijskom metodom CIE L^*a^*b . Netoplnske tehnike i dodatak antioksidansa blago su utjecali na senzorske i kromatske karakteristike crnog vina. Među primijenjenim tehnikama, visoki hidrostatski tlak i ultrazvuk visokih snaga pokazali su blaži i povoljniji učinak na senzorsku kvalitetu tretiranog vina. Dodatak antioksidansa, prvenstveno više koncentracije sumporovog dioksida, rezultiralo je manjim promjenama u senzorskoj kvaliteti tretiranih vina. Primijenjene tehnike, posebice visoki hidrostatski tlak, rezultirale su promjenama u kromatskim karakteristikama karakterističnim za proces starenja vina.

Ključne riječi: netoplnske tehnike, antioksidansi, senzorsko ocjenjivanje, kromatske karakteristike, vino

Rad sadrži: 39 stranica, 12 slika, 2 tablice, 36 literaturnih navoda, 00 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *prof. dr. sc. Karin Kovačević Ganić*

Pomoć pri izradi: *Katarina Lukić, mag. inž.*

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Doc.dr.sc. *Natka Ćurko*
2. Prof.dr.sc. *Karin Kovačević Ganić*
3. Doc.dr.sc. *Sven Karlović*
4. Doc.dr.sc. *Tomislava Vukušić* (zamjena)

Datum obrane: 30. rujna 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Technology and Analysis of Wine

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

THE SENSORY AND CHROMATIC CHARACTERISTICS OF RED WINE CABERNET SAUVIGNON TREATED WITH NON-THERMAL TECHNIQUES AND ANTIOXIDANTS

Adrijana Radić 1078/PI

Abstract: The aim of this work was to investigate the effect of non-thermal techniques (high hydrostatic pressure, high-power ultrasound and cold plasma) and the addition of antioxidants (sulfur dioxide and glutathione) on the sensory and chromatic characteristics of red wine Cabernet sauvignon after 12 months of aging in bottles. The sensory evaluation was performed using a hedonic scale of 9 responses, while the chromatic characteristics were determined by spectrophotometric method CIE $L^*a^*b^*$. Non-thermal techniques and antioxidant additions have slightly influenced the sensory and chromatic characteristics of red wine. Among the applied techniques, high hydrostatic pressure and high-power ultrasound showed the most favorable and lighter effect on the sensory quality of the treated wine. The addition of antioxidants, particularly higher concentration of SO_2 , resulted in slighter changes in the sensory quality of treated wine. The applied techniques, especially high hydrostatic pressure, resulted in slight changes in the chromatic characteristic of the wine, which naturally occur during aging.

Keywords: non-thermal techniques, antioxidants, sensory evaluation, chromatic characteristics, wine

Thesis contains: 39 pages, 12 figures, 2 tables, 36 references, 00 supplements

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: PhD. *Karin Kovačević Ganić*, Full Professor

Technical support and assistance: *Katarina Lukić*, mag. ing.

Reviewers:

1. PhD. *Natka Ćurko*, Assistant professor
2. PhD. *Karin Kovačević Ganić*, Full professor
3. PhD. *Sven Karlović*, Assistant professor
4. PhD. *Tomislava Vukušić*, Assistant professor (substitute)

Thesis defended: 30 September 2019

Sadržaj stranica

1.UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. Osnovne karakteristike crnih vina i vina Cabernet sauvignon	3
2.2. Kvaliteta i senzorske karakteristike vina	4
2.2.1. Senzorska analiza vina	6
2.2.2. Senzorsko ocjenjivanje vina hedonističkom skalom od 9 odgovora	7
2.2.3. Spektrofotometrijsko određivanje boje	8
2.3. Netoplinke tehnike	9
2.3.1. Visoki hidrostatski tlak	9
2.3.2. Ultrazvuk visokih snaga	11
2.3.3. Hladna plazma	12
2.4. Utjecaj dodatka antioksidansa na karakteristike crnih vina	14
2.4.1. Utjecaj dodatka sumporovog dioksida (SO ₂)	14
2.4.2. Utjecaj dodatka glutationa (GSH)	15
2.5. Promjene tijekom starenja crnih vina	16
3. EKSPERIMENTALNI DIO	17
3.1. Materijal	17
3.1.1. Uzorci vina Cabernet sauvignon	17
3.1.2. Aparatura i pribor	17
3.2. Metode	18
3.2.1. Priprema vina za tretiranje	18
3.2.2. Tretman vina visokim hidrostatskim tlakom	18
3.2.3. Tretman vina ultrazvukom visokih snaga	18
3.2.4. Tretman vina hladnom plazmom	18
3.2.5. Punjenje vina u boce i stavljanje na starenje	19
3.2.6. Određivanje kromatskih karakteristika CIE L*a*b* metodom	19
3.2.7. Senzorsko ocjenjivanje uzoraka vina prema verbalnoj hedonističkoj skali od 9 odgovora	21
4. REZULTATI I RASPRAVA	24
5. ZAKLJUČCI	35
6. LITERATURA	36

1. UVOD

Glavni cilj svakog vinara je zadovoljiti potrebe potrošača, proizvesti visokokvalitetno vino u kojem će se tijekom starenja poboljšavati senzorska svojstva te održati mikrobiološka ispravnost. Na kvalitetu vina najveći utjecaj ima sorta vinove loze, područje uzgoja, način berbe te vinogradska praksa.

Iako se fizikalno-kemijskim metodama u velikom mjeri može utvrditi kvaliteta vina, to se ne može smatrati dovoljnim bez senzorske procjene vina. Rezultati fizikalno-kemijske i senzorske analize se međusobno nadopunjuju i daju potpun uvid u kvalitetu i karakteristike vina. Senzorsku procjenu vina provodi odabrani panel za ocjenjivanje koji u svom radu pokazuje dovoljnu sposobnost procjene. Pri senzorskoj procjeni vina od velike važnosti je ambijent u kojem se senzorska analiza provodi koji mora zadovoljavati točno određene kriterije. Jedna od najčešće korištenih metoda za senzorsku procjenu vina je hedonistička skala od 9 odgovora. Prema ovoj metodi panel dobiva upute kušanja prema kojem svaki uzorak uspoređuje sa kontrolom i ocjenjuje intenzitet svojstava koristeći ljestvicu od devet točaka (Pagliarini, 2013).

Mjerenje boje se provodi vizualnim ocjenjivanjem i instrumentalnim mjerenjem. Instrumentalne metode koje se najčešće koriste za određivanje boje prehrambenih proizvoda zasnivaju se na spektrofotometriji. Najčešće korištena metoda za određivanje boje u prehrambenoj industriji koja je korištena i za određivanje boje u ovom radu je CIE $L^*a^*b^*$ metoda.

U svrhu sprječavanja oksidacije vina tijekom starenja dodaju se antioksidansi kao što su sumporov dioksid i glutation. Dodatak sumporovog dioksida osim pozitivnih učinaka na vino (antioksidacijsko i antimikrobno djelovanje) može djelovati i negativno na zdravlje osjetljivih ljudi koji konzumiraju takvo vino. Iz tog razloga nastoje se pronaći tehnike koje će omogućiti proizvodnju kvalitetnih vina sa sniženom koncentracijom SO_2 sa poželjnim senzorskim karakteristikama.

Neke od tehnika najčešće primjenjivanih u tu svrhu su visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga, a u novije vrijeme i tehnika hladne plazme. Riječ je o inovativnim

netoplinskim tehnikama koje za glavni cilj imaju postizanje mikrobiološke stabilnosti vina te istovremeno očuvanje i/ili poboljšanje cjelokupne kvalitete vina. Ove netoplinske tehnike tijekom tretiranja prehrambenih proizvoda značajno ne utječu na povišenje temperature, čime ostaju sačuvana senzorska i organoleptička svojstva proizvoda. Uz to, primjenom ovih tehnika mogu se inaktivirati patogeni mikroorganizmi i mikroorganizmi odgovorni za kvarenje.

U ovom radu istraživao je utjecaj netoplinskih tehnika (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma) i dodatak antioksidansa (SO_2 i glutation) na senzorske i kromatske karakteristike crnog vina Cabernet sauvignon. Glavni cilj prilikom tretiranja vina bio je postizanje prihvatljivih senzorskih karakteristika nakon 12 mjeseci starenja vina u bocama.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. OSNOVNE KARAKTERISTIKE CRNIH VINA I VINA CABERNET SAUVIGNON

Vinova loza, (lat. *Vitis vinifera*) jedna je od najranije kultiviranih biljnih vrsta. Prema međunarodnom kodeksu botaničke kulture, pripada porodici *Ampelideae* ili *Vitaceae*. Osnovni dijelovi grozda su peteljka i bobica. Bobica se sastoji od kože, mesa i sjemenke. Zbog svojih fizioloških, kemijski, senzorskih i drugih važnih svojstava koristi se za potrošnju u neprerađenom stanju, ali i kao sirovina za proizvodnju vina, alkoholnih i bezalkoholnih pića te drugih proizvoda.

Crna vina se proizvode od crnog grožđa. Razlikuje se od bijelih vina, ne samo po boji, već i po kemijskom sastavu, okusu i mirisu. Crna vina su punijeg okusa, ekstraktnija, manje ili više trpka zbog veće količine obojenih, taninskih i mineralnih tvari. Svi sastojci vina potječu od grožđa, neki nepromijenjeni prelaze u vino, a većina tijekom alkoholnog vrenja djelomično ili potpuno prelazi u kemijske spojeve. Kemijskim sastavom uvjetovana je kakvoća vina, a međusobni odnos sastojaka ukazuje na prirodnost vina. Neki sastojci i njihove količine ukazuju na zdravstveno stanje vina (Zoričić, 1996).

Fenoli su široko priznati kao vrlo važna komponenta kvalitete crnog vina. Oni pridonose trpkosti, jednoj od ključnih senzorskih svojstava koji doprinose prihvatljivosti crnih vina od potrošača. Pored fenolnih spojeva, polimerni flavan-3 oli i kondenzirani tanini su vrlo važni zbog njihovog značajnog doprinosa u percepciji trpkosti vina. Međutim, dosadašnje studije su pokazale da tanini sami nisu dovoljan pokazatelj varijacije percepcije trpkosti vina.

U mladim crnim vinima boja se povećava kopigmentacijom, stvaranjem kompleksnih forma između antocijana i bezbojnih kofaktora. Tijekom starenja vina antocijani reagiraju s taninima koji su u obliku polimernih pigmenata ili pigmentnih tanina, za koje se smatra da imaju različita svojstva vezivanja na proteine tanina te na taj način doprinose smanjenju trpkosti vina.

Cabernet sauvignon jedna je od najpoznatijih i najpopularnijih vinskih sorti crnog grožđa nastala križanjem Cabernet Franca i Sauvignona bijelog. Osnova je mnogih bordoških vina te raširen u cijelom svijetu u uvjetima umjereno tople klime. U vinogorje Republike Hrvatske, ponajprije na područje Istre stigao je 1880. godine iz njezine domovine Francuske

(Bordeaux). Bobica Cabernet sauvignon je mala, tamno crna, debele pokožice, a u idealnim uvjetima dozrijevanja vrlo je aromatična. Sadržaj tanina je jako visok, a pulpa je bogata šećerom i kiselinama što Cabernet sauvignon čini vrlo zahvalnom sortom za proizvodnju različitih tipova vina.

Osnovne karakteristike ovog vina su da sadrži mnogo fenola, zahtjeva najbolje uviete dozrijevanja, opekastocrvene do tamno crvene boje, složene arome te profinjenog do jako kiselog, vrlo bogatog okusa.

2.2. KVALITETA I SENZORSKE KARAKTERISTIKE VINA

Kvaliteta ili kakvoća vina opisuje se kao ukupnost njegovih svojstava izraženih kroz standardne parametre. To je odnos njegovih senzorskih i kemijskih svojstava koje čine vino ugodnim, osobitim i korisnim za čovjekovo zdravlje.

Kvaliteta vina određuje se objektivnim metodama i analizama na temelju kojih se utvrđuje kemijski sastav i mikrobiološka ispravnost. Nije lako pronaći način da se na razumljiv način opiše vrijednost vina. Samo fizikalno-kemijskim metodama to nije moguće, te je zato najbolje kada se objektivne metode nadopunjuju organoleptičkim ocjenjivanjem (subjektivnim metodama) čime se dobiju točniji i pouzdaniji podatci (Ferreria, 2001).

Pored kemijskog sastava na kvalitetu vina bitan utjecaj ima sorta, tlo, klimatske prilike kao i sve faze tehnološkog procesa proizvodnje vina na koje utječe čovjek načinom uzgoja i prerade grožđa.

Prema Pravilniku (2005) kakvoća vina utvrđuje se na osnovi sljedećih elemenata:

- Fizikalno-kemijske analize
- Mikrobiološkog ispitivanja vina i taloga
- Ispitivanja ponašanja vina
- Organoleptičkog ocjenjivanja
- Odnosa pojedinih sastojaka u vinu bitnih za pojedino vino

Bitne senzorske karakteristike vina su: okus, miris, bouquet, harmoničnost, sortna tipičnost, boja i bistrina. Kod stručnog pregleda ocjenjuje se još i estetski izgled pakiranja, oblik i boja boce, etiketa i zatvarač, kvaliteta zatvarača i sigurnost zatvaranja te kompletnost deklaracije. Senzorske karakteristike otkrivaju mnoga svojstva vina, posebno daju informacije o kvaliteti i zrelosti te ukazuju na moguće nedostatke.

Na boju crnih vina utječu mnogi čimbenici uključujući klimu, regiju proizvodnje, sortu grožđa, stupanj zrelosti, tehnike u vinarstvu te starost i zrelost. Crna vina mogu se razlikovati po boji od ljubičaste do boje mahagonija. Neke sorte kao što su Cabernet sauvignon su intenzivno obojene, osobito kada su iz tople klime dok drugi kao što su Pinot Noir su izrazito blijedi. Ljubičasta boja je karakteristična za mlada vina, neka su tako intenzivno obojena da izgledaju kao plavo-ljubičasta. Boju crnih vina možemo razmotriti na sljedećoj skali: purpurno-rubin-granat-zlatno-smeđe.

Okus je funkcija okusnih pupoljaka smještenih unutar okusnih bradavica (*papillae*) na jeziku, ali i ispod jezika, s unutrašnje strane obraza i na usnama. Kao osjetilni organ jezik prepoznaje četiri osnovna okusa: slatko, kiselo, slano i gorko. Kiseline koje utječu na kiselost vina su vinska, jabučna i mliječna kiselina, a osim ukupne količine kiselina na intenzitet kiselosti utječe i pH vrijednost vina (Jackson, 2009). Visoke razine alkohola mogu dati iluziju slatkoće, iako visoka koncentracija alkohola može dovesti i do gorkog okusa. Također što je kiselost vina veća vino se može doimati manje slatkim (Grainger, 2009). S obzirom da vino sadrži velike organske anione (npr. tartarate i bitartarate) koji slabo disociraju pri pH vrijednost vina, njihovi zajednički kationi (najčešće K^+ , Ca^{2+}) ne stimuliraju slane receptore. Osim toga, prisutnost Na^+ iona u vinu je ispod senzorskog praga osjetljivosti zbog čega je okus slanog u vinu vrlo rijetko prisutan (Jackson, 2002).

Osjet mirisa nastaje udisanjem zraka zasićenog hlapljivim sastojcima kroz nosnu šupljinu koji se osjete putem oflaktornih receptora. Miris vina nam ukazuje na njegovu kvalitetu. Jači intenzitet vina povezan je s većom kvalitetom. Identificirano je više od 400 spojeva mirisa vina. Njihove koncentracije variraju od 100 ng do 300 mg L^{-1} . Miris vina obuhvaća karakteristike arome koje proizlaze iz promjena koje su se dogodile tijekom fermentacije i dozrijevanja. Alkilni esteri su rezultat fermentacije te su važni spojevi koji daju sekundarne aromatske karakteristike. Terpeni prisutni u grožđu ne mijenjaju se tijekom fermentacije i pridonose primarnim aromama. Tercijarne arome nastaju kao rezultat dozrijevanja vina u bocama, bačvama ili tankovima (Grainger, 2009).

2.2.1. Senzorska analiza vina

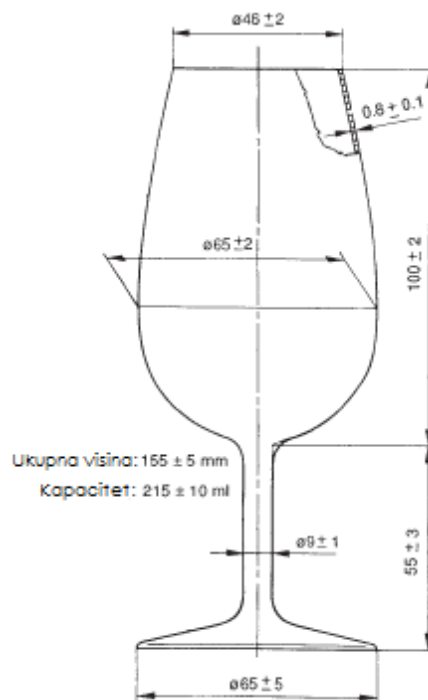
U procjeni kvalitete hrane i pića koriste se brojne metode senzorskog ocjenjivanja. Te metode uključuju edukaciju kako bi se mogle ocijeniti razlike u odnosu na kontrolni uzorak i podrazumijevaju opću metodu ocjenjivanja kvalitete i sveobuhvatnu deskriptivnu analizu. Povijesno gledano, senzorska kvaliteta je u nadležnosti obučenih stručnjaka koji su upoznati sa mogućim nedostacima, neugodnostima i problemima koji se mogu pojaviti u proizvodnji (Lawless i Liu, 1997).

U senzorskim analizama kao detektori služe ljudska osjetila, a analitički instrument čini posebno odabrana, educirana i uvježbana grupa ljudi koja se naziva panelom. Kao i kod svakog analitičkog prihvaćenog postupka i kod senzorskih analiza se očekuje da budu objektivne, točne, ponovljive i reproducibilne (Meiselman, 1993).

Uvjeti u kojim se provodi senzorska analiza vina podrazumijevaju karakteristike prostora u kojem se provodi analiza, karakteristike čaša u kojima se uzorci vina prezentiraju panelistima, količina uzorka, temperatura uzorka, broj uzoraka u jednom kušanju, redoslijed analiziranja uzoraka, trenutak provođenja senzorske procjene i tehniku kušanja vina (Jackson, 2008).

Prostorni uvjeti za provođenje senzorske analize vina podrazumijevaju osvjettljenje neutralnog karaktera što sličnije danjem svjetlu, jednoboje zidove smirujućih tonova, zaštitu od izvora buke i mirisa i održavanje temperature zraka u rasponu od 20-22 °C (Stone i Sidel, 2004).

Za dobro uočavanje boje i bistroće vina važan je oblik, veličina i materijal čaše. Držanjem čaše za nožicu izbjegava se prenošenje tjelesne topline na vino. Važno je da su čaše staklene, mogu biti od prozirnog i crnog stakla. Pri upotrebi čaša od crnog stakla izbjegava se utjecaj boje vina na percepciju okusa i mirisa vina. Čaše koje se upotrebljavaju za senzorsku analizu vina moraju biti čišćene bezmirisnim sredstvima za pranje i pohranjivanje na način da budu potpuno bez mirisa. Na slici 1 prikazana je čaša za senzorsko ocjenjivanje vina.



Slika 1. Čaša za senzorsku analizu vina (dimenzije u mm) (ISO 3591, 1977)

Najpovoljniji trenutak provođenja senzorske analize vina je najmanje dva sata nakon obroka (time se izbjegava da osjećaj sitosti te trajnost okusa i mirisa konzumirane hrane ometaju usredotočenost panelista na obavljanje zadatka), odnosno najmanje jedan sat prije obroka (time se izbjegava da usredotočenost panelista bude ometana osjećajem gladi) (Jackson, 2008).

Senzorska sposobnost kandidata za panel provjerava se jednostavnim testovima identifikacije okusa i mirisa vina, uočavanju graničnih razlika intenziteta određenog podražaja vina i utvrđivanja graničnih koncentracija vina za osnovne okuse vina. Nakon selekcije slijedi trening kandidata koji će predstavljati panel za senzorsku procjenu vina. Oni kandidati koji u svom radu pokažu zadovoljavajuću točnost čine panel (Stone i Sidel, 2004).

2.2.2. Senzorsko ocjenjivanje vina hedonističkom skalom od 9 odgovora

Hedonistička skala od 9 odgovara koristi se u znanosti o hrani, na isti način, već 60 godina. Potrošači pomoću ove skale procjenjuju proizvod. Cilj je ocijeniti je li hrana dovoljne kakvoće da bi se upotrebljavala. Dodjeljuju se brojevi (ocjene) 1-9 hedonističkom skalom pri čemu se proizvodi rangiraju prema preferenciji. Skala obuhvaća niz od 9 verbalnih kategorija

u rasponu od „naročito visoko poželjan“ do „naročito nepoželjan“. Kategorija „naročito visoko poželjan“ rangirana je brojem „9“ dok je kategorija „naročito nepoželjan“ rangirana brojem „1“ (Wichchukit i O'Mahony, 2014).

Senzorsko ocjenjivanje vina oduvijek je imalo veliki interes od strane znanosti i potrošača. Stručnjaci za degustaciju vina imaju veću senzorsku sposobnost od neiskusnih novaka, ali njihovo znanje o vinu može ih ponekad dovesti do pogrešnog shvaćanja proizvoda. Panel za ocjenjivanje dobiva upute da kuša i procjenjuje uzorke vina te ocjenjuje intenzitet svih svojstava koristeći ljestvicu od devet točaka (1=odsutnost osjeta i 9=maksimalan intenzitet). Za svaki uzorak ocjenjivači dobivaju uzorak od 30 mL poslužen u čašama koji je kodiran troznamenastim brojem i pokriveni poklopcem kako bi se izbjegao gubitak hlapljivih komponenti (Pagliarini i sur., 2013).

2.2.3. Spektrofotometrijsko određivanje boje

Razvojem tehnologije u posljednje vrijeme spektrofotometrija je postala neizostavna tehnika za mnoge analize koja se temelji na ovisnosti energije zračenja i kemijskog sastava tvari. Spektrofotometrija je također najčešće primjenjivana metoda u kliničkim i kemijskim laboratorijima. Ultraljubičasta (UV) i vidljiva apsorpcijska spektroskopija primjenjuje za kvantitativnu i kvalitativnu analizu. Instrumenti koji se upotrebljavaju za ovu metodu nazivaju se spektrofotometri. Glavni dijelovi instrumenta koji se upotrebljava u apsorpcijskoj spektrofotometriji su: izvor svjetlosti, monokromator, kivete i držač za kivete te uređaj za mjerenje intenziteta propuštenog svijetla (detektor).

Spektrofotometar je uređaj koji mjeri promjene u refleksiji, transmisiji ili zračenju, u intervalima, duž valnih duljina vidljivog dijela spektra. Instrumentalne metode za određivanje boje daju objektivne podatke te uz odgovarajuće održavanje i umjeravanje daju vrlo precizne i točne rezultate. Za vidljivi dio spektra upotrebljava se lampa sa volframovom niti, dok se za ultraljubičasti dio spektra upotrebljava deuterijeva lampa. Spektrofotometar mjeri promjene u refleksiji, transmisiji ili zračenju, a kao rezultat mjerenja tih promjena dobiva se spektrofotometrijska krivulja. Za određivanje boje najčešće se primjenjuju spektrofotometrijske krivulje u valnom području između 400 i 700 nm.

Stručnjaci su razvili mnoge sustave boja koji su međunarodno standardizirani te se primjenjuju u industrijskoj proizvodnji. Najčešće primjenjivani su XYZ i CIE L*a*b* sustavi

boja. Boja je psihofizičko svojstvo te je različiti promatrači različito percipiraju. Nastanak i doživljaj boje ovisi o spektralnom sustavu svjetla koje pada na predmet koji se promatra, čovjekovom osjetu boje i molekularnoj strukturi materijala s kojeg se svjetlo reflektira. Instrumentale metode u određivanju boje moraju uzet u obzir navedene parametre.

CIE $L^*a^*b^*$ sustav boja zasnovan je na suprotnoj teoriji boja. L^* je funkcija svjetline te daje skalu neutralne boje od crne do bijele boje (0 do 100 jedinica svjetline), a kromatičnost boje definira se u odnosu na neutralnu os koja ima vrijednost 0. CIE a^* je koordinata za crvenu-zelenu, a CIE b^* za žutu-plavu. CIE $L^*a^*b^*$ svoju primjenu nalazi u formuli boja, procesnoj kontroli i kvalitete. Svaka boja definira se svjetlinom i kromatičnošću s tri točke na svakoj osi (Mihoci, 2015).

2.3. NETOPLINSKE TEHNIKE

Razvoj novih tehnologija u procesiranju prehrambenih proizvoda odnosi se na specifične potrebe potrošača prema zdravoj, sigurnoj i minimalno obrađenoj hrani. Ti inovativni procesi dovode do razvoja održive tehnike proizvodnje hrane s niskim energetskeim zahtjevima. Korištenjem određenih potencijala i novih procesa, uključujući razumijevanje i kontrolu složene funkcije procesne strukture daje visoku mogućnost utemeljenog razvoja proizvodnje hrane. Visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk i hladna plazma koriste se za primjenu prilagodljivih i promjenjivih tehnika proizvodnje hrane. U pogledu razvoja i primjene ovih novih tehnologija istraživanja su pokazala visok potencijal uspostave novih pravaca razvoja proizvoda i procesa i njihovo povezivanje sa znanosti o hrani i proizvodnjom hrane. Provedena su mnoga znanstvena istraživanja kako bi se što bolje razumjeli osnovni principi obrade hrane i pića ovim tehnikama. Korištenje netoplinjskih tehnika u održavanju i poboljšavanju kvalitete proizvoda postaje jedan od glavnih inovativnih koncepata u prehrambenoj industriji (Knorr i sur., 2011).

2.3.1. Visoki hidrostatski tlak

Visoki hidrostatski tlak javlja se kao alternativna tehnologija obrade hrane čijom se upotrebom ne narušava kvaliteta proizvoda. Ova tehnika prelazi iz istraživačkog i razvojnog okruženja u široko rasprostranjenu industrijsku primjenu. Razina tlaka koji se primjenjuje u rasponu je od nekoliko desetaka MPa u običnim homogenizatorima ili ekstraktorima superkritičnih tekućina do nekoliko stotina MPa u ultravisokotlačnim homogenizatorima ili

visokotlačnim pasterizacijskim jedinicama. Uz to ima primjenu u inaktivaciji mikroorganizama kako bi se povećao rok trajanja proizvoda. Bez sumnje, inaktivacija vegetativnih mikroorganizama za produljenje roka trajanja proizvoda trenutno je najveća komercijalna primjena ove tehnike. Kod ovog tretmana proizvod se odlaže u nosač, te se automatski unosi u posudu, a čepovi su zatvoreni. Medij putem kojeg se prenosi visoki hidrostatski tlak je obična voda koja se pumpa s obje strane posude. Moguće je ovim načinom tretirati i tekuće namirnice na način da tekući proizvod ispuni posudu koja djeluje kao medij za prijenos tlaka te se ostvaruje kompresija izravno preko pokretnog klipa. Daljnji način obrade visokim tlakom je homogenizacija koja je dosegla posebnu važnost posljednjeg desetljeća. Koristi se ne samo za pripremu ili stabilizaciju emulzija i suspenzija, već i za stvaranje fizičkih promjena kao što je promjena viskoznosti proizvoda i inaktivaciju mikrobne populacije. Prvi tretman obrade viskom tlakom zabilježen krajem 90-tih godina prošlog stoljeća, bio je inaktivacija mikroorganizama u mlijeku, a korišten je u svrhu produljenja roka trajanja kravljeg mlijeka nakon tretmana. Prehrambena industrija i srodni istraživački instituti opsežno su istraživali ovo područje te visoki hidrostatski tlak primijenili na širokom rasponu prehrambenih proizvoda (Knorr i sur., 2011).

Organski spojevi kao što su propilen glikol i etanol sadrže hidroksilne funkcionalne skupine te zbog toga mogu stvarati vodikove veze između molekula. To može utjecati na njihovo toplinsko ponašanje pod tlakom. Tretman pod tlakom može imati i različite učinke na aktivnost enzima. Na aktivnost enzima može utjecati razgradnja pod utjecajem tlaka. Kombinacija tlaka s povišenom temperaturom može uzrokovati povećanje stope inaktivacije enzima. Tretmani visokim tlakom uništavaju štetne mikroorganizme na sobnoj ili povišenoj temperaturi bez značajnog mijenjanja oragnoleptičkih ili nutritivnih svojstava hrane. Navedeni proces se uspješno koristi u konzerviranju hrane više od 15 godina, ali visoka kapitalna ulaganja i ograničena propusnost stvaraju ograničenja za primjenu ove tehnike za preradu tekuće hrane (Gupta i Balasubramaniam, 2012).

Primjena visokog hidrostatskog tlaka (HHP) kao alterantivne metode smanjenju upotrebu sumporovog dioksida u proizvodnji vina još je u ranoj fazi razvoja, budući da je vrlo malo saznanja o njenom utjecaju na fizikalno-kemijske i senzorske karakteristike vina. Ima učinak na kemijski sastav funkcionalnih komponenti, uključujući fenolne kiseline, flavan 3-ole, proantocijanidine i antocijane i hlapljive spojeve. Nakon tretmana ovom tehnikom u vinu povećava se koncentracija fenolnih kiselina, dok se razina flavan 3-ola smanjuje. Sadržaj i

struktura proantocijanidina također se mijenja ovim tretmanom s trendom koji je sličan onom koji se javlja prirodnim starenjem. Nadalje, smanjuje se sadržaj hlapljivih spojeva koji se javljaju pri korištenju tradicionalnih tehnika za mikrobiološki stabilizirajuća vina. Prema istraživanju (Sun i sur., 2015) pokazalo se da tretman visokim tlakom može doprinijeti stabilnosti vina na način da stabilizira proteine koji nastaju kondenzacijom antocijana. Osim fizikalno-kemijskih svojstava tretman visokim tlakom mijenja i senzorska svojstva vina. Sadržaj alkohola tretmanom se smanjuje, ali ne i značajno. Boja vina se drastično mijenja kako se povećava primijenjeni tlak. Nakon tretmana, izgled, aroma i okus vina se poboljšavaju. Poboljšavaju se i senzorska svojstva takvog vina te time dobivamo kvalitetnija vina (Sun i sur., 2015).

Učinci utjecaja ove tehnike na vinu su vidljivi tek nakon 6 mjeseci skladištenja. Glavne promjene do kojih dolazi su: promjena boje, niža antioksidacijska aktivnost, smanjenje ukupnog sadržaja fenola i antocijana (Santos i sur., 2013). Primjenom ove tehnike na vino dolazi do reakcija koje su karakteristične onima tijekom starenja te senzorska svojstva postaju slična starom vinu. Primjena ove tehnologije crnim vinima daje komercijalno poboljšanje, te ugodnija i upečatljivija svojstva (Santos i sur., 2013).

2.3.2. Ultrazvuk visokih snaga

Prva ultrazvučna ispitivanja u hrani započela su 1950. godine, a vezana su za praćenje ultrazvučnog rezanja hrane. Provedena istraživanja (Knorr i sur., 2011) pokazala su da primjenom ultrazvuka visokog intenziteta poboljšava se proces fermentacije zbog povećanog prijenosa mase kroz staničnu stjenku i membranu i njegovog utjecaja na granične slojeve. Razvojem i primjenom ultrazvučne opreme dolazi do povećanja gustoće te povećanja stope inaktivacije mikroorganizama. Nekoliko studija istraživanja (Knorr i sur., 2011) pokazalo je da ultrazvučna pasterizacija provedena na 50°C može predstavljati visoki potencijal za očuvanje fizikalno-kemijskih svojstava, boje i okusa u usporedbi sa uobičajenom termičkom pasterizacijom. Smatra se da primjena ultrazvuka u prehrambenoj tehnologiji ima pozitivne i negativne učinke na sastojke hrane. Npr. primjena ultrazvuka u očuvanju voćnih sokova smatra se povoljnim jer je ultrazvučna obrada rezultirala samo manjom promjenom boje i retencijom 94% antocijana u soku od kupine (Knorr i sur.,). Primjena ultrazvuka u konzerviranju hrane je ograničena zbog uništenja fizikalno-kemijskih svojstava hrane. Iako su istraživanja ultrazvuka u prehrambenoj industriji svestrana i pokazuju mnoga obećanja, do sada je samo nekoliko tretmana dostiglo industrijsku razinu (Knorr i sur., 2011).

Tretman vina ultrazvukom može pomoći u procesu starenja na način da ubrza ili poboljša neke reakcije (tehnika brzog starenja) ili se može primjenjivati na grožđe s učinkom povećane ekstrakcije spojeva iz grožđa u mošt (tehnika ekstrakcije) te na taj način može poboljšati proces starenja vina (Garcia Martin i Sun, 2013). Ultrazvuk korišten kao tehnika brzog starenja, može osigurati vina sa višim sadržajem antocijana i smanjenje tanina što se smatra pozitivnim u proizvodnji kvalitetnih vina (Garcia Martin i Sun, 2013). Primjenom ove tehnologije dokazano je da se u vinu ne mijenjaju osnovni enološki parametri kao što su pH, kiselost, alkohol te sadržaj šećera. Međutim, kada je riječ o senzorskoj procjeni može doći do velikih promjena u mirisu kada je vino tretirano ultrazvukom. Do danas mnogi problemi uključuju primjenu ultrazvuka u vinarstvu te je njegova primjena još uvijek dvosmislena. Iz dostupnih informacija u literaturi može se zaključiti da primjena ultrazvuka na vinu nije dovoljna da ubrza proces starenja vina. Do sada nijedno istraživanje nije pokazalo da tretman ultrazvukom na vinu potiče promjene u antocijanima, taninima i fenolima u kratkom vremenu (Garcia Martin i Sun, 2013). Neke promjene u boji vina, aromi i okusu vina se ističu, ali ukupne promjene neposredno nakon primjene ultrazvuka na vino nisu zabilježene. Ukoliko su kvasci koji su prisutni u vinu (najčešće *S. Cerevisiae*) podložni brzom autolizi u uvjetima u kojima se vino nalazi, smatra se da vino nije pretretirano ovom fizičkom metodom te se može postići kraće vrijeme starenja zajedno sa poboljšanom strukturom vina te boljom stabilnošću boje (Garcia Martin i Sun, 2013).

Naime, istraživanje Ćurko i sur. (2017) pokazalo je da ultrazvuk utječe na kemijski sastav tretiranih crnih vina poticanjem kemijskih reakcija što rezultira smanjenjem sadržaja fenola i kromatskih karakteristika, dok s druge strane doprinosi starenju i razvoju arome.

2.3.3. Hladna plazma

Hladna plazma je nova tehnika koja služi za poboljšanje sigurnosti hrane bez gubitaka fizikalno-kemijskih i senzorskih svojstava (Lukić i sur., 2019).

Općenito, plazma je opisana kao potpuno ili djelomično ioniziran plin s karakterističnim električnim, kemijskim i fizikalnim svojstvima, koje se mogu generirati mnogim metodama kao što su električna pražnjenja i šokovi (Petitpas i sur., 2007). U hladnoj plazmi temperatura elektrona je viša od temperature plina. Najpogodniji uređaj za obradu

hrane plazmom je uređaj atmosferskog tlaka kojem nisu potrebni ekstremni uvjeti i mogu se ostvariti niske temperature. Nedavne istraživačke aktivnosti u primjeni plazme na hranu uglavnom su usmjerene na inaktivaciju mikroorganizama, ali malo se zna o učinku plazme na sastav hrane. U novije vrijeme hladna plazma se često primjenjuje za poboljšanje roka trajanja svježe pripremljene hrane (Knorr i sur., 2011).

Hladna plazma je nova, netopljiva, jeftina, ekološki prihvatljiva tehnika s potencijalom primjene u prehrambenoj industriji. Primjena ove tehnike pokazala je značajan potencijal dekontaminacije patogenih mikroorganizama koji uzrokuju kvarenje voćnih sokova. Netopljiva priroda primjene štiti prehrambena i senzorska svojstva voćnih sokova i pomaže u produljenju njihovog roka trajanja (Pankaj i Keener, 2018).

Obradom crnog vina visokonaponskim električnim pražnjenjem, hladnom plazmom, pokazalo se da ona utječe na stabilnost ukupnih fenola bez značajne promjene u boji. Također se pokazalo da vrijeme trajanja tretmana značajno utječe na koncentraciju ukupnih fenola, antocijana i tanina koja je posljedica degradacije navedenih spojeva pod utjecajem plazme. Utvrđeno je kako plazma proizvodi udarne valove, kavitaciju i emisiju svjetlosti koji također mogu biti uzrok razgradnje organskih spojeva u vinu. U usporedbi sa netretiranim vinima pokazalo se da je vino koje je tretirano ovom tehnikom rezultiralo blagom promjenom kromatskih karakteristika i redukcijom fenolnih spojeva u crnom vinu. Za razliku od toga u bijelim vinima koja su tretirana ovom tehnikom došlo je do povećanja sadržaja pojedinih fenolnih spojeva te se pokazalo da se ona može koristiti za poboljšanje oksidacijske stabilnosti tijekom starenja ovih vina (Lukić i sur., 2019).

Za razliku od visokog hidrostatskog tlaka i ultrazvuka visokih snaga, malo se zna o učinku hladne plazme na kvalitetu vina. Prethodna istraživanja uglavnom su bila usmjerena na utjecaj ove tehnike na voćne sokove te je na temelju toga utvrđeno da se primjenom ove tehnike poboljšava ekstrakcija fenolnih spojeva i pasterizacija voćnih sokova (Križanović i sur., 2018). Unatoč prednostima navedene tehnike potrebno je procijeniti njezin utjecaj na senzorska svojstva kao jedan od glavnih parametara kvalitete vina. Nakon tretmana crnog vina hladnom plazmom javljaju se veće promjene u odnosu na tretman visokim hidrostatskim tlakom te ultrazvukom. Prije svega dolazi do negativnog učinka na senzorska svojstva vina (Križanović i sur., 2018).

2.4. UTJECAJ DODATKA ANTIOKSIDANSA NA KARAKTERISTIKE CRNIH VINA

Osnovna uloga dodatka antiosidansa u vino je da se uspori oksidacija vrlo osjetljivih molekula. U tu svrhu upotrebljavaju se različiti antioksidansi koji pružaju dobre rezultate (Antoce i sur., 2016).

2.4.1. Utjecaj dodatka sumporovog dioksida (SO₂)

Upotreba sumporovog dioksida (SO₂) u procesu proizvodnje vina uključuje higijenske i tehnološke rizike, te također, što je najvažnije utječe na senzorska svojstva vina. Sumporov dioksid ima nekoliko relevantnih učinaka, među kojima posebno treba istaknuti inaktivaciju bakterija i kvasaca i prije svega antioksidacijski učinak čime sprječava oksidaciju spojeva koji su odgovorni za negativna organoleptička svojstva vina.

Enološki značaj u dodatku SO₂ uglavnom se odnosi na boju bijelih vina jer dolazi do oksidacije ukoliko vino nije zaštićeno sa SO₂. Kako još uvijek postoje problemi s pljesnivim groždem, ovaj spoj je u upotrebi da bi se zaštitila vina od oksidacije, kako bijela tako i crna. Dodavanje SO₂ tijekom proizvodnje vina rezultira boljom djelotvornošću ovog konzervansa tijekom starenja. Antioksidativni i antimikrobni učinci sumporovog dioksida ovisi o njegovoj kemijskoj formi. Njegovo djelovanje kao antioksidans ispoljava se samo kada je u obliku bisulfida (Usseglio-Tomasset, 2009).

Sumporov dioksid je najčešći antioksidans i konzervans koji se koristi u proizvodnji vina jer ima visoku mogućnost sprječavanja oksidacije kao i antimikrobnu ulogu. Glavna uloga u vinarstvu je da zaštiti vino od štetnih utjecaja kisika na način da ukloni vodikov peroksid, orto-kinone i karbonilne spojeve. Sumporov dioksid također ima važnu ulogu u smanjenju oksidacije polifenola.

Međutim, sumporov dioksid može negativno utjecati na zdravlje ljudi zbog svoje alergenosti te smanjenje njegove upotrebe postaje prioritet u industriji hrane i pića. Proizvodnja vina bez dodatka sumporovog dioksida je neprihvatljiva za brojne enologe zbog višestruke mogućnosti zaštite, ali zbog zaštite zdravlja potrošača pronalaženje drugih zamjenskih proizvoda ili spojeva sa sličnim ili boljim konzervansom mora biti prioritet za istraživače vina (Badea i Antoce, 2015).

2.4.2. Utjecaj dodatka glutaciona (GSH)

Jedan od najperspektivnijih spojeva sa sposobnošću da zamijeni antioksidacijsku aktivnost sumporovog dioksida u proizvodnji vina je upravo glutacion. S obzirom da ima sličnu ulogu antioksidativne zaštite, pretpostavlja se da može funkcionirati na sličan način kao sumporov dioksid i kao takav može doprinijeti smanjenju količine sumporovog dioksida koji se koristi za antioksidacijsku zaštitu vina. Zbog svog visokog afiniteta za kisik, glutacion čuva voćne aromatične note mladih vina i sprječava prerano starenje vina te na taj način smanjuje pojavu atipičnih oksidativnih mirisa tijekom starenja vina (Badea i Antoce, 2015).

Glutacion (GSH) je važan sastojak grožđa, mošta i vina. Poseban naglasak se stavlja na njegovu ulogu kao antioksidans. To je tripeptid sastavljen od L-glutamata, L-cisteina i glicina. Primjena i uloga glutaciona u vinu nedavno je dobila značajnu znanstvenu i komercijalnu vrijednost. Primarni razlog tome je povezan s kontrolom oksidativnog kvarenja vina (Kritzinger i sur., 2012). Oksidacijsko kvarenje predstavlja dobro poznati problem u vinarstvu. Bijela vina su u velikoj mjeri osjetljiva na izloženost kisiku što može dovesti do gubitka karakteristične arome, nepoželjnih promjena u boji vina kao i razvoja netipičnih znakova starenja. Glutacion ima ključnu ulogu u oksidaciji mošta, gdje zadržava o-kinone, te također ima zaštitni učinak na različite aromatske spojeve u vinu (Kritzinger i sur., 2012). Brojna istraživanja pokazala su kako dodatak glutaciona može imati zaštitni učinak na boju vina tijekom starenja (Kritzinger i sur., 2012). Prema tome glutacion djeluje kao inhibitor posmeđivanja. Glutacion štiti i hlapljive spojeve u vinu kao što su esteri i terpeni od oksidacije i drugih reakcija u koje oni ulaze (Kritzinger i sur., 2012). Isto tako važan je zaštitnik hlapljivih tiola koji su identificirani kao važni sastojci vina Cabernet Sauvignon (Kritzinger i sur., 2012).

Hlapljivi tioli su posebno osjetljivi na oksidaciju tijekom skladištenja. Glutacion se može natjecati sa aromatskim tiolima za mjesto vezivanja na o-kinone te na taj način ograničava gubitak sortne arome. Bolja antioksidacijska svojstva glutaciona postižu se dodatkom askorbinske kiseline. Glutacion može imati glavnu ulogu u dugoročnoj kvaliteti vina. Međutim, još uvijek postoji nedoumica u ulozi glutaciona u grožđu i vinu. Razvoj analitičke kemije trebao bi pomoći u detaljnijem objašnjenju uloge glutaciona vezano za kemijska i senzorska svojstva vina. (Kritzinger i sur., 2012).

2.5. PROMJENE TIJEKOM STARENJA CRNIH VINA

Proizvođači vina nastoje postići stabilna visokokvalitetna vina s produženim razdobljem vrhunskog okusa i arome. Starenje vina je tradicionalni, skupi i dugotrajni proces proizvodnje visokokvalitetnog vina koji je pod utjecajem mnogih čimbenika.

Starenje vina je proces dozrijevanja pri čemu se u najvećoj mjeri mijenja aroma vina. Crna vina koja su pogodna starenju sadrže veliku količinu tanina i alkohola. U procesu starenja vino doseže vrhunac kvalitete, još uvijek zadržava voćne arome mladog vina te dobiva okus zrelosti i kompleksnu aromu.

Vino može odležavati u staklenim bocama ili u drvenim bačvama. Starenje vina u drvenim bačvama ima veliku važnost jer se iz drveta (hrast) u vino ekstrahiraju tanini i fenoli koji imaju veliku važnost u razvoju boje i arome crnih vina. Odležavanje vina u staklenim bocama se uvelike razlikuje od ovog u drvenim bačvama jer vino tada može gubiti kisik (ukoliko je čep stalno vlažan) i taj proces nazivamo „reduktivno starenje“ (Garcia Martin i Sun, 2013).

Istraživanje Villamor i suradnika (2009) ukazuje na snažan utjecaj faktora skladištenja kao što su svjetlo i kisik na vino tijekom starenja. Ispitivano je skladištenje vina u zatamnjanim bocama uz odsustvo svjetlosti, tako da se uočeni učinci mogu pripisati početnoj koncentraciji tanina, temperaturi skladištenja i vremenu. Utvrđeno je kako se utjecaj koncentracije tanina, temperature skladištenja i vremena skladištenja na kemijski sastav i senzorska svojstva razlikuju ovisno o sorti.

Pretpostavlja se da toplinska obrada uzrokuje promjene u taninima i pigmentima te na taj način uzrokuje pojavu gorkog okusa vina. Smatra se da je gubitak tanina visoke molekularne težine rezultat cijepanja C-C veze koja je katalizirana kiselošću vina. U Cabernet sauvignon vinu se pojavljuju kraći lančani produkti te su upravo oni uzrok povećanog gorkog okusa (Villamor i sur., 2009).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJAL

3.1.1. Uzorci vina Cabernet sauvignon

Istraživanje je provedeno na crnom vinu sorte Cabernet sauvignon (Erdutski vinogradi d.o.o., Erdut, Hrvatska), proizvedenom 2017. godine sa sniženom koncentracijom sumporovog dioksida. U tablici 1 prikazan je osnovni fizikalno-kemijski sastav vina Cabernet sauvignon.

Tablica 1. Osnovni fizikalno-kemijski sastav vina Cabernet sauvignon

Parametar	Cabernet sauvignon
Alkohol (vol %)	13,1
Ukupna kiselost (g L^{-1} vinske kiseline)	5,3
Hlapiva kiselost (g L^{-1} octene kiseline)	0,61
Reducirajući šećeri (g L^{-1})	4,1
pH	3,46
Jabučna kiselina (g L^{-1})	0,1
Mliječna kiselina (g L^{-1})	1,3
Ukupni sumporov dioksid (mg L^{-1})	25
Slobodni sumporov dioksid (mg L^{-1})	15

3.1.2. Aparatura i pribor

Aparatura:

UV/Vis spektrofotometar, SPECORD®50 PLUS, AnalytikJena, Jena, Njemačka

Pribor:

Menzura volumena 50 mL

Staklene čaše

Plastične Petrijeve zdjelice

Kivete od 1 cm

3.2. METODE

3.2.1. Priprema vina za tretiranje

Tretmani vina netoplinjskim tehnikama (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma) uključivali su nekoliko varijanti sa i bez antioksidansa, a korišteni antioksidansi bili su sumporov dioksid i glutation. Varijante tretiranih vina uključivale su: (i) vino sa sniženom koncentracijom SO₂ (15 mg L⁻¹ slobodnog SO₂); (ii) vino sa sniženom koncentracijom SO₂ i glutationom (15 mg L⁻¹ slobodnog SO₂ uz dodatak 20 mg L⁻¹ glutationala) te (iii) vino sa standardnom koncentracijom SO₂ (30 mg L⁻¹ slobodnog SO₂). Kontrolno vino bilo je vino sa standardnom koncentracijom SO₂.

3.2.2. Tretman vina visokim hidrostatskim tlakom

Tretman vina visokim hidrostatskim tlakom uključivao je: tretman pri tlaku od 200 MPa i trajanju tretmana od 5 minuta pomoću uređaja za visoki tlak (FPG7100, Stansted Fluid Power, Iso-lab High Pressure System, Stansted Fluid Power Ltd., Harlow, Essex, UK). Postupak tretiranja vina bio je sljedeći: plastičnu bočicu od 100 mL napuniti vinom do vrha, dobro zatvoriti čepom te vakimirati u vrećicu. Potom ju postaviti u radni cilindar volumena 2000 mL ispunjenim tlačnom tekućinom (propilen–glikol).

3.2.3. Tretman vina ultrazvukom visokih snaga

Tretman vina ultrazvukom visokih snaga uključivao je tretman ultrazvučnom sondom promjera 12,7 mm, ultrazvučnog procesora snage 600 W i 20 kHz (S-4000, Misonix Sonicators, Newtown, SAD). Tretiranja su izvršena pri amplitudi ultrazvučnog vala od 100 % odnosno 120 µm i trajanju tretmana od 3 minute. Postupak HPU tretiranja vina bio je sljedeći: 200 mL vina stavljeno je u staklenu čašu od 250 mL. Zatim je ultrazvučna sonda uronjena u uzorak (oko 2 cm) i centrirana u sredinu čaše. Tijekom HPU tretmana temperatura je održavana na 25°C hlađenjem ledom.

3.2.4. Tretman vina hladnom plazmom

Tretman vina hladnom plazmom uključivao je primjenu tekućinske hladne plazme generirane pulsnim visokonaponskim generatorom (Spellman, UK) uz upuhivanje mjehurića

plina argona (protok = 4 L min⁻¹) pri pozitivnom polaritetu. Tretiranja su izvršena pri frekvenciji 60 Hz i trajanju tretmana od 3 minute. Tijekom tretmana plin argon je upuhivan kroz igličnu visokonaponsku elektrodu. Postupak tretiranja vina bio je sljedeći: 300 mL vina staviti u reaktor volumena 1000 mL s otvorom na dnu za prolaz iglične visokonaponske elektrode, začepljen gumenim čepom s otvorom prilagođenim za elektrodu uzemljenja.

3.2.5. Punjenje vina u boce i stavljanje na starenje

Odmah nakon tretmana, provedeno je punjenje vina u boce u struji dušika. Vina su potom skladištena u vodoravnom položaju u hladnjak za čuvanje vina pri kontroliranim uvjetima. Uzorci vina analizirani su nakon 12 mjeseci odležavanja u bocama.

3.2.6. Određivanje kromatskih karakteristika CIE L*a*b* metodom

Princip određivanja:

CIE L*a*b* prostorni model boja je trodimenzionalni sustav boja koji se temelji na percepciji standardnog promatrača kojeg predstavlja statistički podatak dobiven nizom mjerenja i najbliži je vizualnoj percepciji (CIE, 1986). Koordinate CIE L*a*b* sustava boja se temelji na Heringovoj teoriji suprotnih parova boja, koje ujedno predstavljaju i osi sustava. Kromatske karakteristike vina prema CIE L*a*b* sustavu tako opisuju sljedeći parametri: akromatska os L* (svjetlina) sa vrijednostima u rasponu od 0 % do 100 %, pri čemu je 0 % crna, a 100 % bijela; raspon boja crveno-zeleno za os a* (vrijednost a); raspon boja žuto-plavo za os b* (vrijednost b), C* (kromatičnost) te H* (kut tona boje) (slika 2.).

Postupak određivanja:

Mjerenje transmisije provesti skeniranjem valnih duljina od 380 do 780 nm, svakih 5 nm, uz D65 iluminant i kut promatrača 10°, u kiveti od 1 cm nasuprot destiliranoj vodi kao slijepoj probi.

Račun:

Ukupna promjena boje između referentnog (netretiranog) uzorka odnosno standarda i ostalih uzoraka prema CIE L*a*b* sustavu izračunava se prema sljedećoj formuli:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

$$\Delta L^* = L_1^* - L_2^*$$

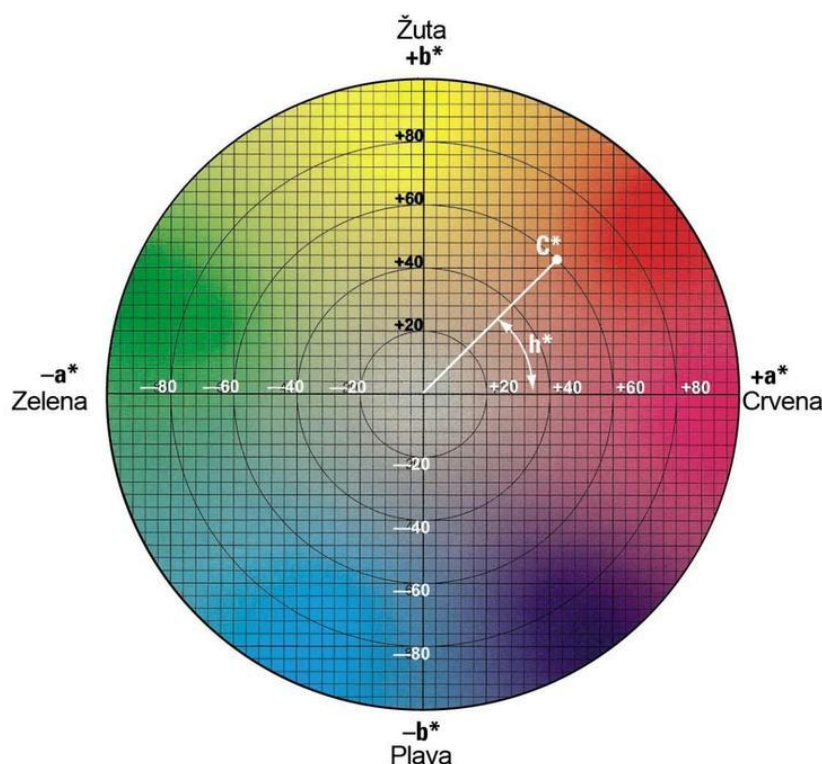
$$\Delta a^* = a_1^* - a_2^*$$

$$\Delta b^* = b_1^* - b_2^*$$

gdje se veličine L_1^* , a_1^* i b_1^* odnose na boju kojoj se mjeri odstupanje (uzorak), a veličine L_2^* , a_2^* i b_2^* na referentnu boju (standard), pri čemu pozitivne vrijednosti pojedinih razlika (ΔL^* , Δa^* , Δb^*) znače da uzorak ima više te varijable u odnosu na standard. Na primjer, ako je razlika u svjetlini pozitivna vrijednost ($\Delta L^* > 0$), to znači da je uzorak svjetliji od standarda, i obrnuto.

Ovisno o izmjerenim vrijednostima parametra ΔE u odnosu na standard moguće su sljedeće mogućnosti (Schläpfer, 1993):

$\Delta E^* < 0,2$	razlika boja se ne vidi
$\Delta E^* = (0,2 - 1)$	razlika boja se primjećuje
$\Delta E^* = (1 - 3)$	razlika boja se vidi
$\Delta E^* = (3 - 6)$	razlika boja se dobro vidi
$\Delta E^* > 6$	očigledna odstupanja boja



Slika 2. CIE $L^*a^*b^*$ prostor boja

Na slici 3 prikazan je uređaj pomoću kojeg su određene kromatske karakteristike crnog vina (Cabernet sauvignon) CIE L*a*b* metodom.



Slika 3. Spektrofotometar (Specord 50 Plus), AnalytikJena, Jena, Njemačka

3.2.7. Senzorsko ocjenjivanje uzoraka vina prema verbalnoj hedonističkoj skali od 9 odgovora

Princip određivanja:

Senzorska analiza uzoraka crnog vina provedena je od strane panel grupe Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu sastavljene od 14 kušača, tijekom 6 termina kušanja. U svakom terminu kušano je 4 uzoraka vina (kontrola + 3 tretirana uzorka = 3 varijante x 3 tehnike x 2 ponavljanja). Ukupan utjecaj svih tehnika na boju, miris i okus ocijenjen je koristeći verbalnu skalu s 9 mogućih odgovora (1 = naročito nepoželjan, 2 = vrlo nepoželjan, 3 = osrednje nepoželjan, 4 = neznatno nepoželjan, 5 = neutralan, 6 = neznatno poželjan, 7 = osrednje poželjan, 8 = vrlo poželjan, 9 = naročito visoko poželjan) (Stone i Sidel, 1985).

Postupak određivanja:

Ocjenjivanje vina, provoditi na sobnoj temperaturi (20-22 °C) i u vremenskom periodu od 11 do 13 h. Uzorke vina prezentirati senzoričarima na isti način: 30 mL uzorka staviti u prozirne staklene čaše za degustaciju vina (ISO 3591, 1977), kodirane troznamenkastim brojem, te poklopiti plastičnom Petrijevom zdjelicom. Postupak kušanja je sljedeći: kušač prije početka kušanja tretiranih uzoraka mora kušati kontrolni (netretirani) uzorak vina (označen šifrom 000), kojem je na hedonističkoj skali dodijeljena vrijednost 9 („naročito visoko poželjan“) te obzirom na njega ocijeniti boju, miris i okus tretiranih uzoraka. Primjer postavljenih uzoraka za senzorsku analizu te ocjenjivačkog listića prikazani su na slikama 4 i 5.



Slika 4. Uzorci vina postavljeni za provođenje senzorske analize

Ime i prezime: _____ Datum : _____

Koristeći hedonističku skalu s 9 odgovora ocijenite šifrirane uzorke vina obzirom na boju miris i okus. Kontrolnom (netretiranom) uzorku vina (označen šifrom 000) je na hedonističkoj skali dodijeljena vrijednost 9 (naročito visoko poželjan). Postupak: obzirom na kontrolni uzorak ocijeniti tretirane uzorke obzirom na boju, miris i okus.

Boja, miris i okus:

		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 = naročito nepoželjan	000	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
2 = vrlo nepoželjan	521	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 = osrednje nepoželjan	302	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4 = neznatno nepoželjan	116	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5 = neutralan										
6 = neznatno poželjan										
7 = osrednje poželjan										
8 = vrlo poželjan										
9 = naročito visoko poželjan										

Napomene:

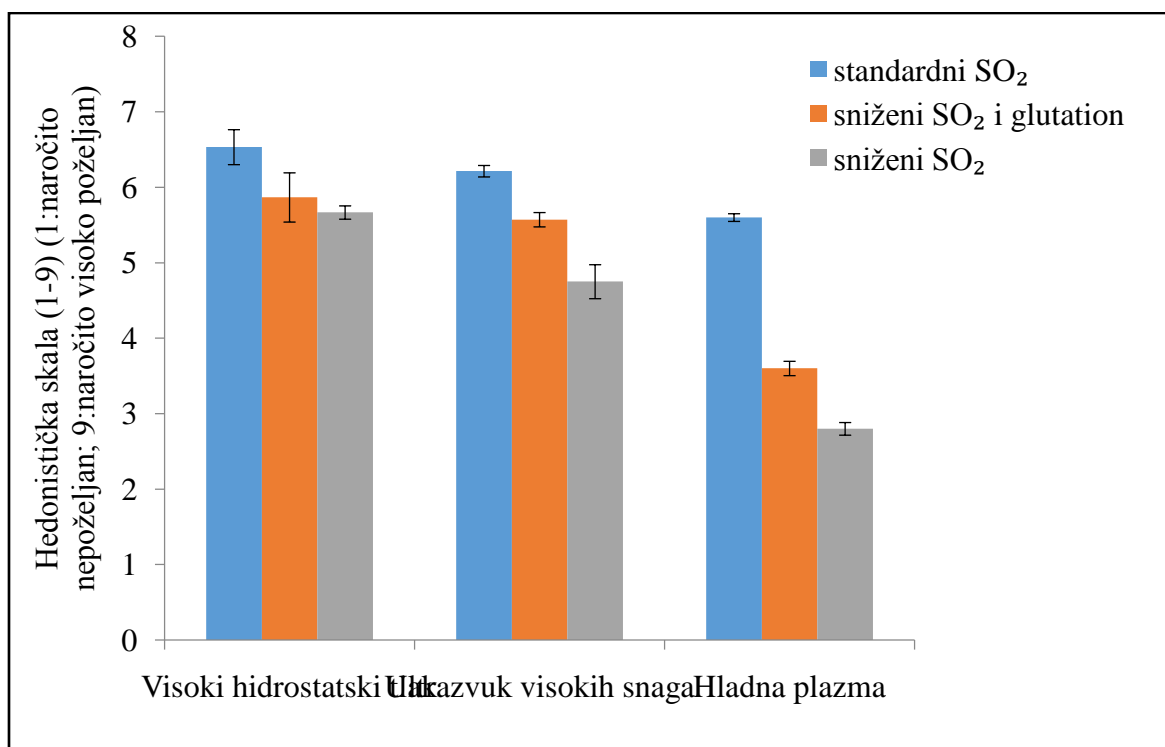
Slika 5. Ocjenjivački listić za senzorsku analizu boje, mirisa i okusa uzoraka vina verbalnom hedonističkom skalom od 9 odgovora

4. REZULTATI I RASPRAVA

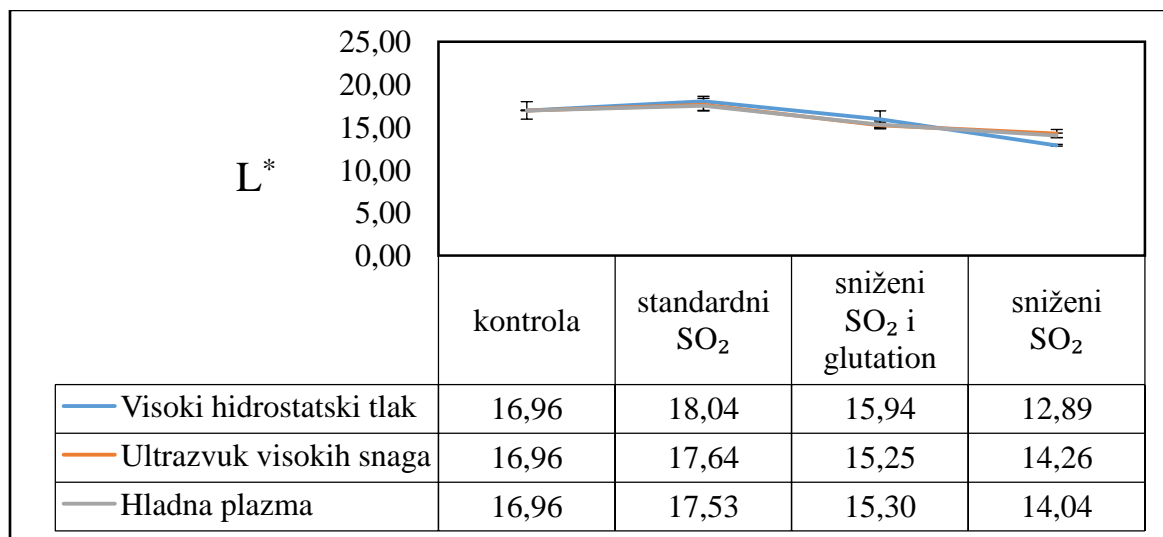
Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj netoplinskih tehnika (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma) i dodatka antioksidansa (sumporov dioksid i glutation) na senzorska svojstva i kromatske karakteristike crnog vina Cabernet sauvignon nakon 12 mjeseci starenja u bocama.

Nakon 12 mjeseci starenja takvog vina u bocama provedeno je senzorsko ocjenjivanje boje, mirisa i okusa prema hedonističkoj skali te analiza kromatskih karakteristika (svjetlina, raspon boje crveno-zeleno, raspon boje žuto-plavo, kromatičnost i kut tona boje) prema CIE $L^*a^*b^*$ metodi, usporedno sa kontrolnim (netretiranim) vinom.

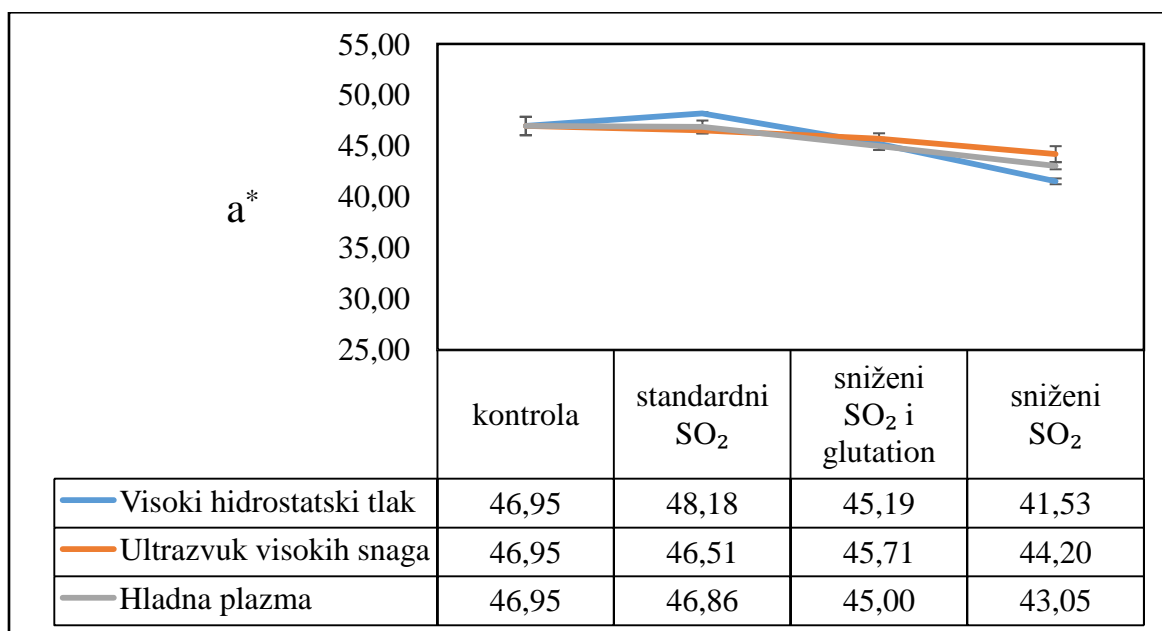
Na slici 6 prikazani su rezultati utjecaja netoplinskih tehnika i dodatka antioksidansa na senzorske karakteristike (boja, miris i okus) vina Cabernet sauvignon nakon 12 mjeseci starenja u bocama. Na slikama 7, 8, 9, 10 i 11 prikazane su vrijednosti kromatskih karakteristika L^* (svjetlina – raspon boja crno-bijela), a^* (raspon boja crveno-zeleno), b^* (raspon boja žuto-plavo), C^* (kromatičnost) i H^* (kut tona boje) određene u kontrolnom i tretiranim uzorcima crnog vina nakon 12 mjeseci starenja u bocama. U tablici 2 prikazana je razlika parametara boje (ΔL^* , Δa^* , Δb^*) između kontrolnog (netretiranog) uzorka i tretiranih uzoraka crnog vina, dok je na slici 12 prikazana ukupna promjena boje (ΔE) u tretiranim uzorcima crnog vina Cabernet sauvignon nakon 12 mjeseci starenja.



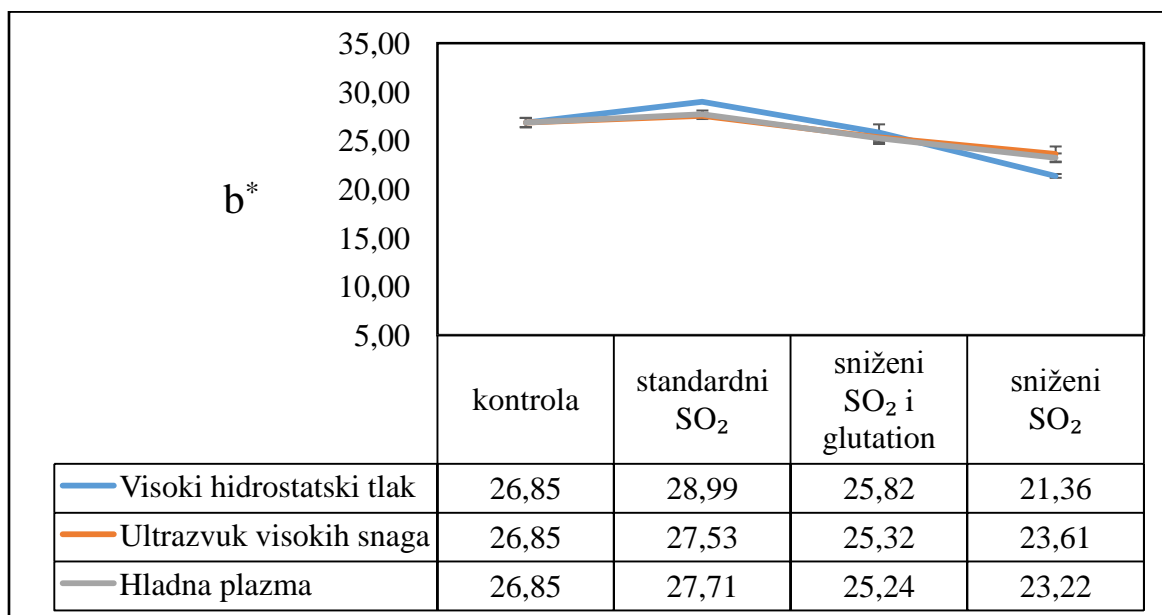
Slika 6. Utjecaj visokog hidrostatskog tlaka, ultrazvuka visokih snaga i hladne plazme na senzorske karakteristike (boja, miris i okus) vina Cabernet sauvignon nakon 12 mjeseci starenja



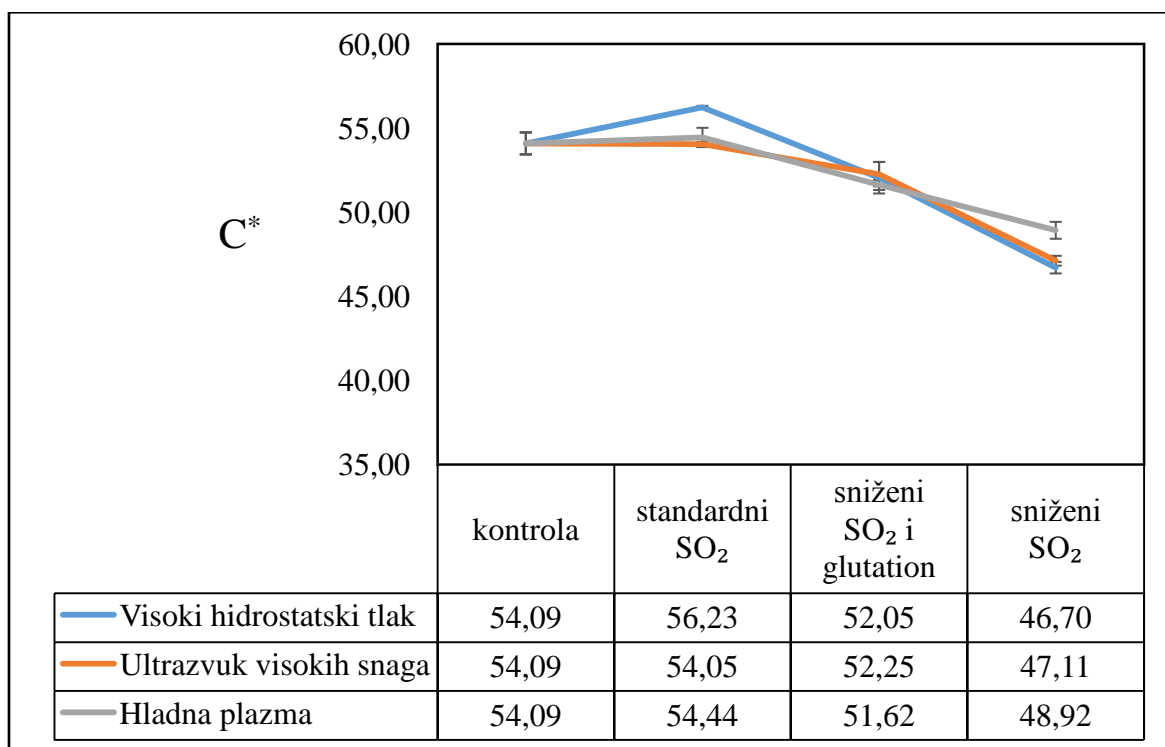
Slika 7. Prikaz vrijednosti L* određene u uzorcima crnog vina Cabernet sauvignon tretiranim visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja



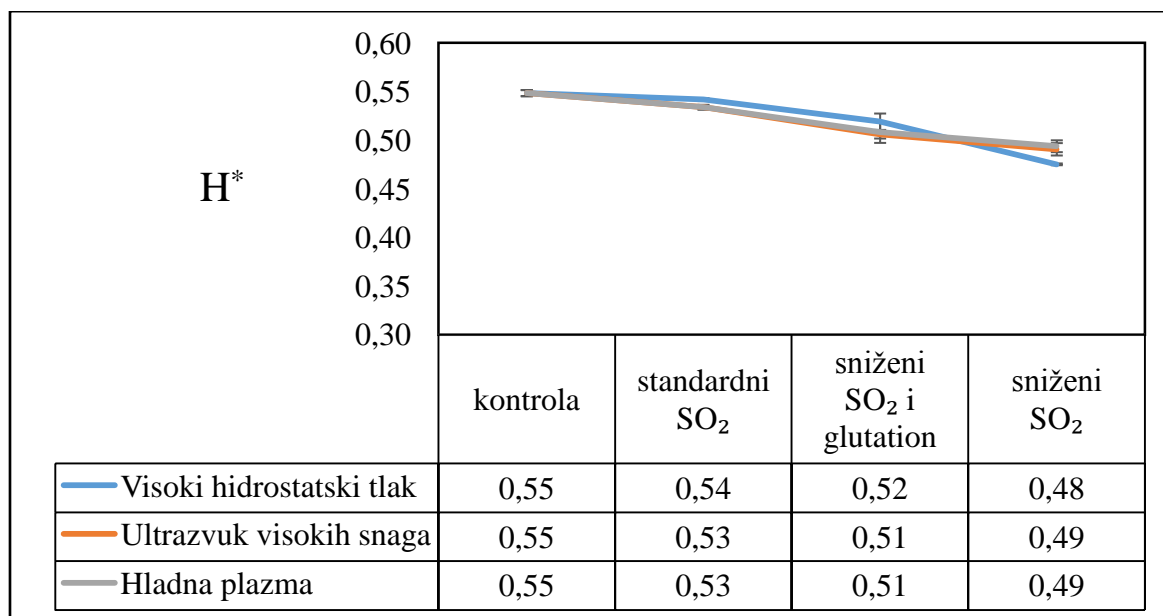
Slika 8. Prikaz vrijednosti a^* određene u uzorcima crnog vina Cabernet sauvignon tretiranim visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja



Slika 9. Prikaz vrijednosti b^* određene u uzorcima crnog vina Cabernet sauvignon tretiranim visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja



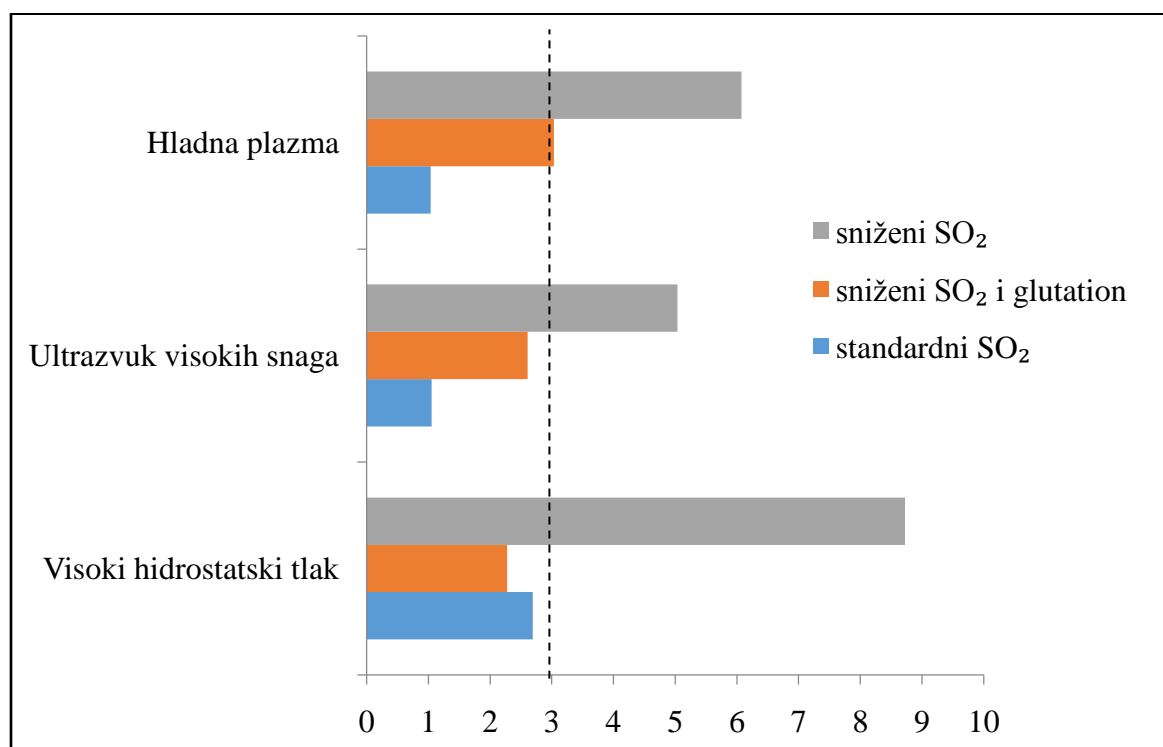
Slika 10. Prikaz vrijednosti C*određene u uzorcima crnog vina Cabernet sauvignon tretiranim visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja



Slika 11. Prikaz vrijednosti H*određene u uzorcima crnog vina Cabernet sauvignon tretiranim visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja

Tablica 2. Razlika parametara boje (ΔL^* , Δa^* , Δb^*) između kontrolnog (netretiranog) uzorka i uzoraka crnog vina (Cabernet sauvignon) tretiranih visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja

Tehnika	Uzorak	ΔL^*	Δa^*	Δb^*
Visoki hidrostatski tlak	Standardni	1,08±1,74	1,23±2,27	2,14±2,31
	Sniženi SO ₂ i glutathion	-1,02±0,35	-1,76±0,53	-1,30±0,54
	Sniženi SO ₂	-4,07±0,47	-5,43±0,78	-5,49±0,78
Ultrazvuk visokih snaga	Standardni	0,67±1,57	-0,44±1,63	0,68±2,37
	Sniženi SO ₂ i glutathion	-1,71±0,49	-1,24±0,04	-1,53±0,59
	Sniženi SO ₂	-2,70±0,27	-2,75±0,34	-3,24±0,45
Hladna plazma	Standardni	0,57±0,58	-0,09±0,12	0,86±0,03
	Sniženi SO ₂ i glutathion	-1,67±0,96	-1,95±0,60	-1,61±0,89
	Sniženi SO ₂	-2,92±0,10	-3,90±0,29	-3,63±0,20



Slika 12. Ukupna promjena boja (ΔE^*) u crnom vinu Cabernet sauvignon tretiranom visokim hidrostatskim tlakom, ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom nakon 12 mjeseci starenja

Senzorsko ocjenjivanje crnog vina Cabernet sauvignon nakon 12 mjeseci starenja provedeno je tijekom 6 termina kušanja od strane panel grupe Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, koja se sastoji od 14 kušača. Istraživanje je provedeno s ciljem utvrđivanja utjecaja netoplinjskih tehnika (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma) i dodatka antioksidansa (SO_2 i glutation) na senzorske karakteristike (boju, miris i okus) tretiranog vina. Analizirani su uzorci vina sa standardnom koncentracijom sumporovog dioksida, uzorci vina sa sniženom koncentracijom sumporovog dioksida uz dodatak glutationa te uzorci vina sa sniženom koncentracijom sumporovog dioksida. Kušači su pritom uspoređivali uzorke vina koji su tretirani netoplinjskim tehnikama u odnosu na kontrolu (netretirani uzorak) te ih ocjenjivali hedonističkom skalom od 9 odgovora. Dobiveni rezultati senzorske analize su obrađeni i prikazani na slici 6 kao srednja vrijednost sa standardnom devijacijom. Iz dobivenih rezultata vidljivo je kako su kušači uspjeli prepoznati razlike između uzoraka vina.

Iz rezultata senzorske analize vina (slika 6) vidljivo je kako vina tretirana visokim hidrostatskim tlakom i ultrazvukom visokih snaga imaju bolja senzorska svojstva u odnosu na one koji su tretirani hladnom plazmom. Do istih zaključaka dolaze Križanović i suradnici (2018) koji pokazuju da se nakon tretmana crnog vina hladnom plazmom javljaju negativni učinci na senzorska svojstva vina u odnosu na druge dvije tehnike.

Naime, nakon tretmana crnog vina visokim hidrostatskim tlakom poboljšava se aroma i okus, postiže se komercijalno poboljšanje senzorskih svojstava vina (Sun i sur., 2015). Nadalje, istraživanje Yang i sur. (2012) pokazuje kako obrada visokim hidrostatskim tlakom poboljšava senzorska svojstva vina smanjujući intenzitet mirisa po kiselom. Upravo u našem istraživanju uočavamo da je vino tretirano ovom tehnikom ocijenjeno kao vino vrlo dobrih senzorskih svojstava.

Također je vidljivo kako se u sva tri tretmana netoplinjskim tehnikama vino sa standardnom koncentracijom sumporovog dioksida pokazalo najkvalitetnijim odnosno vinom najbolje očuvanih senzorskih karakteristika. Na drugom mjestu je vino sa sniženom koncentracijom sumporovog dioksida i dodatkom glutationa, a kao najlošije ocijenjeno je vino sa sniženom koncentracijom sumporovog dioksida. Može se zaključiti da je sumporov dioksid najsnažniji antioksidans koji u najvećoj mjeri čuva vino od nepoželjnih promjena u kvaliteti. Također, uočavamo da glutation ima nešto manju antioksidacijsku aktivnost, no u

svakom slučaju njegov dodatak u vino rezultirao je boljim organoleptičkim svojstvima u odnosu na uzorke vina gdje nije bilo dodatka antioksidansa. Istraživanje (Gambuti i sur., 2015) pokazuje kako vina sa reduciranom koncentracijom sumporovog dioksida uz dodatak glutathiona imaju srednji stupanj oksidacije. Naime, glutathion se može koristiti kao dodatak sumporovom dioksidu za očuvanju crvene boje vina tijekom starenja (Gambuti i sur., 2015).

Nadalje, najlošije ocijenjena su vina sa sniženom koncentracijom sumporovog dioksida uz dodatak glutathiona i sa sniženom koncentracijom sumporovog dioksida koja su tretirana hladnom plazmom. Budući da se vino sa standardnom koncentracijom sumporovog dioksida, i u slučaju tretmana hladnom plazmom, pokazalo kao vino najboljih senzorskih karakteristika, potvrđuje se snažna antioksidacijska moć ovog antioksidansa.

Metoda korištena za spektrofotometrijsko određivanje boje crnog vina je CIE $L^*a^*b^*$ metoda. Obzirom da je boja vina vrlo bitan vizualni pokazatelj njegove kvalitete, ova metoda omogućila je vrlo preciznu analizu kromatskih karakteristika vina.

Rezultati ovog istraživanja pokazuju kako su uočene male promjene u kromatskim karakteristikama vina tretiranih netoplinskim tehnikama i antioksidansima (SO_2 i glutathion) u odnosu na kontrolno vino.

Slika 7 prikazuje promjene u vrijednosti L^* (svjetlina) gdje uočavamo utjecaj pojedine tehnike i dodatka antioksidansa (SO_2 i glutathiona) na svjetlinu vina Cabernet sauvignon nakon 12 mjeseci starenja. Uočavamo da se vrijednost parametra L^* blago povećala u odnosu na kontrolni (netretirani) uzorak iz čega zaključujemo da je vino postalo svjetlije. Nadalje, kod tretmana visokim hidrostatskim tlakom došlo je do najvećeg povećanja L^* vrijednosti u odnosu na tretmane ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom. Osim toga, neovisno o provedenim tretmanima, utvrđene su razlike ovisno o koncentraciji SO_2 pri čemu su niže vrijednosti analiziranog parametra L^* određene u vinima sa sniženom koncentracijom SO_2 .

Kod vina sa standardnom koncentracijom SO_2 najveće promjene se uočavaju primjenom visokog hidrostatskog tlaka. Vrijednost parametra L^* se povećala za 1,08. Primjenom ultrazvuka visokih snaga povećala se za 0,67, dok se primjenom hladne plazme neznatno povećala za 0,57. Kod vina sa sniženom koncentracijom SO_2 uz dodatak glutathiona suprotan je slučaj, budući da je najveća promjena L^* vrijednosti uočena kod tretmana ultrazvukom

visokih snaga (1,71), a najmanja kod tretmana visokim hidrostatskim tlakom (1,02). Kod vina sa sniženom koncentracijom SO₂ najveća promjena kolorimetrijskog parametra L* uočena je kod tretmana visokim hidrostatskim tlakom (4,07).

Vrijednost parametra L* je ostala nepromijenjena tijekom tretiranja crnog vina visokim hidrostatskim tlakom (Križanović i sur., 2018) što nije u skladu s našim istraživanjem, budući da je kod ove obrade zapažena varijacija.

Slika 8 prikazuje promjene u vrijednosti kolorimetrijskog parametra a* (raspon boja crveno-zeleno) gdje uočavamo da se vrijednost spomenutog parametra blago promijenila nakon tretmana vina netoplinskim tehnikama u odnosu na kontrolno vino. Blago povećanje za 1,23 zabilježeno je kod vina sa standardnom koncentracijom sumporovog dioksida koje je tretirano visokim hidrostatskim tlakom, dok su kod istog vina koje je tretirano ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom uočene neznatne promjene. Ovi rezultati ukazuju na to da se vrijednost kolorimetrijskog parametra a* mijenja nakon tretmana vina pojedinim netoplinskim tehnikama, ali je to i dalje vizualno neznatno. Također, jasno su vidljive razlike ovisno o koncentraciji SO₂ pri čemu su niže vrijednosti analiziranog parametra a* određene u vinima sa sniženom koncentracijom SO₂.

Slika 9 prikazuje promjene u vrijednosti kolorimetrijskog parametra b* (raspon boja žuto-plavo). Naime, kao i vrijednost kolorimetrijskog parametra a*, vrijednost i ovog parametra se u većini slučajeva blago povećala u odnosu na kontrolno vino. Također, najveće povećanje bilježi vino sa standardnom koncentracijom SO₂ koje je tretirano visokim hidrostatskim tlakom, u kojem to povećanje iznosi 2,14. Neznatno povećanje vrijednosti kolorimetrijskog parametra b* javlja se i kod vina sa standardnom koncentracijom sumporovog dioksida koje je tretirano ultrazvukom visokih snaga i hladnom plazmom za 0,68 i 0,86. Neovisno o primijenjenim tehnikama mogu se uočiti razlike u vrijednostima parametra b* ovisno o koncentraciji SO₂ pri čemu su niže vrijednosti analiziranog parametra određene u vinima sa sniženom koncentracijom SO₂.

Slika 10 prikazuje dobivene vrijednosti kromatičnosti odnosno kolorimetrijskog parametra C*, iz kojih uočavamo da se vrijednost i ovog parametra u većini slučajeva blago promijenila nakon tretmana vina netoplinskim tehnikama. Do nešto većeg povećanja dolazi kod varijante vina sa standardnom koncentracijom sumporovog dioksida koje je tretirano

visokim hidrostatskim tlakom (2,15). Naime uočavamo da nije došlo do značajnih varijacija između tretiranih uzoraka i kontrolnog vina. Ova odstupanja su neznatna i promjene koje uzrokuju nisu vizualno uočljive.

Kut tona boje ili vrijednost kolorimetrijskog parametra H^* prikazuje slika 11 gdje vidimo najmanja odstupanja između pojedinih tretiranih uzoraka i kontrolnog uzorka. Generalno su uočene neznatne promjene parametra H^* odnosno njegova vrijednost je ostala konstantnom u analiziranim uzorcima nakon 12 mjeseci starenja. Najveće odstupanje u odnosu na kontrolu ima vino sa sniženom koncentracijom sumporovog dioksida koje je tretirano sa visokim hidrostatskim tlakom, a iznosi 0,07.

Na temelju ovih rezultata zaključujemo da tretmani netoplinjskim tehnikama uzrokuju male promjene kromatskih karakteristika crnih vina. Te promjene su neznatne i nisu primjetne ljudskim okom. Odnosno nije došlo do značajne promjene u boji vina Cabernet sauvignon.

Istraživanje Lukić i sur. (2019) pokazuje kako tijekom tretmana crnog vina hladnom plazmom dolazi do blagog smanjenja vrijednosti parametara L^* , a^* , b^* i C^* , dok vrijednost parametra H^* ostaje konstantna, ukazujući na neznatne promjene u kromatskim karakteristikama vina. To je u skladu s našim istraživanjem budući da nije došlo do značajnih promjena navedenih parametara tijekom tretmana hladnom plazmom.

U većini slučajeva vrijednosti kolorimetrijskih parametara su se povećale te su ovi rezultati u skladu sa drugim istraživanjima koja su primijetila da tijekom starenja crno vino dobiva više narančastih i jasnih boja što odgovara povećanju kolorimetrijskih parametara L^* , b^* i H^* (Santos i sur., 2013).

Rezultati razlike parametara boje (ΔL^* , Δa^* , Δb^*) između tretiranih uzoraka i kontrolnog vina prikazani su u tablici 2. Najveća razlika u svim parametrima boje CIE $L^*a^*b^*$ sustava uočena je kod tretmana visokim hidrostatskim tlakom, potom kod uzoraka tretiranih ultrazvukom visokih snaga i na kraju hladnom plazmom. Neovisno o primijenjenim tehnikama, najveća razlika u odnosu na kontrolno vino vidljiva je kod vina sa sniženom koncentracijom SO_2 , dok je dodatak glutaciona rezultirao manjim intenzitetom promjena u analiziranim parametrima boje. Naime, više koncentracije SO_2 rezultirale su najmanjim

promjenama kromatskih karakteristika kod svih primijenjenih tehnika. Najveće razlike kod tretiranih uzoraka vina primijećene su za kolorimetrijske parametre a^* i b^* (tablica 2).

Parametar ΔE^* uzima u obzir razlike u kromatskim koordinatama L^* , a^* i b^* te je izračunat prema jednadžbi kako bi se precizno odredile promjene u kromatskim karakteristikama vina. Sveukupna kolorimetrijska razlika netretiranog vina u odnosu na one koji su podvrgnuti netoplinjskim tehnikama izračunata je kako bi se moglo procijeniti da li je došlo do vidljive promjene boje. Slika 12. prikazuje utjecaj pojedine netoplinjske tehnike i dodatka antioksidansa (SO_2 i glutation) na ukupnu promjenu boje između tretiranih uzoraka i kontrolnog vina (vrijednost ΔE^*). Najveće promjene kolorimetrijske razlike uočavamo kod tretmana vina visokim hidrostatskim tlakom. Nešto manje promjene parametra ΔE^* vidljive su kod tretmana ultrazvukom visokih snaga te tretmana hladnom plazmom.

Teoretski limit percepcije ljudskog oka $\Delta E > 3$ je predložen kao prag za uočavanje promjene boje kod crnog vina (Santos i sur., 2012). Iz dobivenih rezultata (slika 12) vidljivo je kako je vrijednost ΔE^* , varijante vina sa standardnom koncentracijom sumporovog dioksida u slučaju svih netoplinjskih tehnika, vrlo niska. Kod tretmana hladnom plazmom i ultrazvukom visokih snaga iznosila je svega 1,04 i 1,05, a kod tretmana visokim hidrostatskim tlakom 2,69. Nadalje, vrijednost ΔE^* uzoraka vina sa sniženom koncentracijom SO_2 i dodatkom glutationa u slučaju tretmana visokim hidrostatskim tlakom (2,28) i ultrazvukom visokih snaga (2,61) je također ispod teoretskog limita percepcije ($\Delta E < 3$), dok je kod tretmana hladnom plazmom vrijednost iznosila 3,03. Stoga možemo zaključiti da promjena boje kod svih primijenjenih tehnika uz dodatak antioksidansa (sumporov dioksid i glutation) nije primjetna ljudskim okom.

Ukoliko se vrijednost parametra ΔE^* nalazi u rasponu od 3 do 6, razlika boja se dobro vidi, a ukoliko je iznad 6, znači da je došlo do očiglednih odstupanja u boji.

Vino sa sniženom koncentracijom sumporovog dioksida u slučaju sve tri tehnike pokazuje najviše vrijednosti kolorimetrijske razlike. Najveća razlika vidljiva je kod tretmana ove varijante vina visokim hidrostatskim tlakom gdje vrijednost ΔE^* iznosi 8,72. Kod tretmana hladnom plazmom iznosila je 6,08, a ultrazvukom visokih snaga 5,04 (slika 12). Iz čega proizlazi da je kod ove varijante vina došlo do iznimno očiglednih odstupanja u boji.

Može se zaključiti da je tretman pojedinim tehnikama i dodatak pojedinih antioksidansa utjecao na ukupnu promjenu boje crnog vina Cabernet sauvignon. U ovom istraživanju najveći utjecaj na ukupnu promjenu boje imao je tretman visokim hidrostatskim tlakom. Najveća promjena boje uočena je kod vina sa sniženom koncentracijom SO₂, a najmanja kod varijante sa standardnom koncentracijom SO₂.

5. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata dobivenih nakon senzorske analize i određivanja kromatskih karakteristika crnog vina Cabernet sauvignon može se zaključiti sljedeće:

1. Senzorska analiza pokazala je da primjena netoplinskih tehnika (visoki hidrostatski tlak, ultrazvuk visokih snaga i hladna plazma) i dodatak antioksidansa (SO_2 i glutation) nema negativan i nepovoljan utjecaj na senzorske karakteristike (boja, miris i okus) crnog vina.
2. Na temelju rezultata senzorske analize utvrđeno je kako visoki hidrostatski tlak i ultrazvuk visokih snaga imaju blaži i povoljniji utjecaj na senzorske karakteristike crnog vina u odnosu na tehniku hladne plazme.
3. Pozitivna koleracija utvrđena je između uzoraka vina sa standardnom koncentracijom sumporovog dioksida u odnosu na uzorke sa sniženom koncentracijom ovog antioksidansa i glutationa, što ukazuje na pozitivne učinke dodatka ovog antioksidansa na senzorske i kromatske karakteristike crnog vina.
4. Na temelju rezultata ukupne promjene boje (ΔE^*), primjena netoplinskih tehnika i dodatak antioksidansa, posebice sumporovog dioksida, rezultirala je blagim promjenama u kromatskim karakteristikama (L^* , a^* , b^* , C^* i H^*) crnog vina, od čega je najveća promjena uočena kod vina sa sniženom koncentracijom SO_2 te primjenom tehnike visokog hidrostatskog tlaka.
5. Uočene promjene u kromatskim karakteristikama tretiranih vina karakteristične su za proces dozrijevanja vina, što ukazuje na činjenicu da su ove tehnike, posebice visoki hidrostatski tlak, pogodne za ubrzavanje procesa starenja vina.

6. LITERATURA

Antoce, A. O., Badea, G. A., Cojocar, G. A. (2016) Effect of glutathione and ascorbic acid addition on the CIELab chromatic characteristics Of Muscat Ottonel wines. *Agric. Agric. Sci. Proc.* **10**, 206-207.

Badea, G. A., Antoce, A. O. (2015) Glutathione as a possible replacement of sulfur dioxide in winemaking technologies. *Sci. Pap. B, Hortic.* **59**, 123-135.

CIE, Central Bureau of the Commission Internationale de L'Eclairage (1986) Colorimetry, Publication CIE No. 15.2., Vienna, Austria.

Ćurko, N., Kelšin, K., Režek-Jambreš, A., Tomašević, M., Gracin, T., Poturica, V., Ružman, E., Kovačević-Ganić, K. (2017) The effect of high power ultrasound on phenolic composition, chromatic characteristic, and compounds of red wines. *Croat. J. Food. Sci. Technol.* **9**, 136-144.

Ferreria, B. R., Piacarra-Pereria, M.A., Monterio, S. Luorerio, A., Teixeira, A.R. (2001) The Wine Proteins. *Trends Food Sci. Tech.* **7**, 230-239.

Gambut, A., Han, G., Peterson, A.L., Waterhouse A. L. (2015) Sulfur Dioxide and Glutathione Alter the Outcome of Microoxygenation. *Am. J. Enol. Vitic.* **66**, 411-423.

Garcia Martin, J. F., Sun, D. W. (2013) Ultrasound and electric fields as novel techniques for assisting the wine ageing process: The state-of-the-art research. *Food Sci. Technol. Res.* **33**, 40-53.

Grainger, K. (2009) Wine Quality: Tasting and Selection, 2.izd., John Wiley & Sons, Ltd, Chichester. str. 22-39.

Gupta, R., Balasubramanian, V. M. (2012) High-Pressure Processing of Fluid Foods. U: Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods (Cullen, P.J., Tiwari, B.K., Valdramidis, V.P., ured.) Elsevier Inc., San Diego, str. 109-133.

ISO 3591:1977, Sensory analysis- Apparatus- Wine- tasting glass.

Jackson, R. S. (2002) Wine Tasting: A Professional Handbook, 1. izd., Academic Press, New York.

Jackson, R. S. (2008) *Wine Science: Principles and Applications*, 3. izd., Academic Press, New York.

Jackson, R. S. (2009) *Wine Testing: A Professional Handbook*, 2. izd., Elsevier, USA.

Knorr, D., Froehling, A., Jaeger, H., Reineke, K., Schlueter, O., Schoessler, K. (2011) Emerging Technologies in Food Processing. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **2**, 203-235.

Kritzinger, E. C., Bauer, F. F., Troit, W. J. (2012) Role of Glutathione in Winemarking. *J. Agr. Food Chem.* **61**, 269-277.

Križanović, S., Kelšin, K., Režek Jambrak, A., Bosiljkov, T., Vukušić, T., Marković, K., Tomašević, M., Kovačević Ganić, K. (2018) Influence of high power ultrasound, high hydrostatic pressure and non-thermal plasma on the changes in sensory and color properties of wine. Proceedings of the interdisciplinary conference on Natural resources green technology and sustainable development/3. GREEN 2018, Zagreb, str. 6-11.

Lawless, H., Liu, Y. (1997) Evaluation of wine Quality using a small-panel Hedonic scaling method. *J. Sens. Stud.* **12**, 317-332.

Lukić, K., Vukušić, T., Tomašević, M., Ćurko, N., Gracin, L., Kovačević Ganić K. (2019) The impact of high voltage electrical discharge plasma on the chromatic characteristics and phenolic compositions of red and white wines. *Innov. Food. Sci. Emerg.* **53**, 70-77.

Meiselman, H. L. (1993) Critical evaluation of sensory techniques. *Food Qual. Prefer.* **4**, 33-40.

Mihoci, M. (2015) Osvrti: Spektrofotometrijsko određivanje boje. *Kem. Ind.* **64**, 683-685.

Pagliarini, E., Laureti, M., Geata, D. (2013) Sensory descriptors, hedonic perception and consumers attitudes to Sanqiovese red wine deriving from organically and conventionally grown grapes. *Front. Psychol.* **4**, 896.

Pankaj, S. K., Keener, K. M. (2018) Cold Plasma Processing of Fruit Juices. U: *Fruit Juices* (Rajuria, G., Tiwari, B. K., ured.) Elsevier Inc., Dublin, str. 529-535.

Petitpas, G., Rollier, J.-D., Darmon, A., Gonzalez-Aguilar, J., Metkemeijer, R., Fulcheri, L. (2007) A comparative study of non-thermal plasma assisted reforming technologies. *Int. J. Hydrogen Energ.* **32**, 2848-2867.

Pravilnik o proizvodnji vina (2005) *Narodne novine* **96**, Zagreb (NN 96/03).

Santos, M. C., Nunes, C., Capelle, J., Goncaleves, F. J., Rodrigues, A., Saraiva, J. A., Coimbra, M. A. (2013) Effect of high pressure treatment on the physicochemical properties of a sulphur dioxide- free red wine. *Food Chem.* **141**, 2558-2566.

Santos, M. C., Nunes, C., Saraiva, J. A., Coimbra, M. A. (2012) Chemical and physical methodologies for the replacement / reduction of the sulfur dioxide use during winemarking: review on their potentialities and limitations. *Eur. Food Res. Technol.* **234**, 1-12.

Schläpfer, K. (1993) Farbmeterik in der Reproduktionstechnik und im Mehrfarbendruck, 2. izd., UGRA, St. Gallen.

Stone, H., Sidel, J. L. (1985) Sensory Evaluation Practices, 1. izd., Academic Press, Inc., New York, USA.

Stone, H., Sidel, J. L. (2004) Sensory Evaluation Practices, 3. izd., Academic Press, New York.

Sun, X., Chen, X., Li, L., Ma, T., Zhao, F., Huand, W., Zhan, J. (2015) Effect of ultra-high pressure treatment on the chemical properties, colour and sensory quality of young red wine. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* **36**, 393-401.

Usseglio-Tomasset, L. (2009) Properties and use of sulphur dioxide. *Food Addit. Contam.* **9**, 399-404.

Villamor, R.R., Harbertson, J.F., Ross, C.F. (2009) Influence of Tannin Concentration, Storage Temperature and Time of Chemical and Sensory Properties of Cabernet Sauvignon and Merlot Wine. *Am. J. Enol. Viticult.* **60**, 442-449.

Wichchukit, S., O'Mahony, M. (2014) The 9-point hedonic scale and hedonic ranking in food science: Some reappraisals and alternatives. *J. Sci. Food Agr.* **95**, 2167-2178.

Yang, T., Sun, D., Górecki, A., Błaszczak, W., Lamparski, G., Amarowicz R., Fornal, J., Jeliński, T. (2012) Effects of high hydrostatic pressure processing on the physicochemical and sensorial properties of red wine. *Innov. Food. Sci. Emerg.* **16**, 409-416.

Zoričić, M. (1996) Podrumarstvo, Nakladni zavod Globus, Zagreb.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Adrijana Radić
